

**Alma Mater Studiorum – Università di Bologna**

**DOTTORATO DI RICERCA IN**

**Scienze chirurgiche**

**Ciclo XXX**

**Settore Concorsuale: 06/E1**

**Settore Scientifico Disciplinare: MED 22**

**LE INNOVAZIONI BIO-TECNOLOGICHE NELLA CURA DELLE ULCERE  
VASCOLARI DIFFICILI: EFFICACIA ED ESPERIENZA AMBULATORIALE**

**Presentata da: Giuliano Colliva**

**Coordinatore Dottorato**

**Prof.ssa Annalisa Patrizi**

**Supervisore**

**Prof. Andrea Stella**

**Esame finale anno 2018**



## **INDICE:**

### **Introduzione**

- **Epidemiologia** **3**
- **Eziologia** **3**
- **Diagnostica e Caratteristiche morfologiche delle ulcere vascolari** **4**
- **Diagnosi differenziale ulcere vascolari - altre ulcere** **9**

### **Terapia eziologica dell'ulcera "difficile" **10****

- **Stile di vita** **10**
- **Medico** **10**
- **Elastocompressivo** **11**
- **Chirurgico** **13**

### **La terapia locale dell'ulcera **17****

- **Le innovazioni bio-tecnologiche nella cura delle ulcere** **18**
- **Valutazione dell'efficacia** **18**

**Terapia a pressione negativa TPN** **18**

**Gel piastrinico PRP** **24**

**Sostituti Dermici** **30**

**Fattori di crescita** **34**

## **INTRODUZIONE**

L'obiettivo di questo lavoro è quello di valutare, in base alla più recente letteratura medica e alla luce della nostra esperienza clinica di 3 anni presso l'ambulatorio di chirurgia vascolare del policlinico S.Orsola, in consulenza presso l'ospedale di Imola e di collaborazione con l'ambulatorio delle lesioni aperte dell'UO di Dermatologia del Policlinico S. Orsola di Bologna, quale sia l'approccio migliore (su misura al paziente) e più innovativo nel trattamento delle ulcere difficili.

Quello che si propone questo lavoro è quello di mettere in risalto l'eterogeneità eziologica della patologia ulcerativa, stressando il concetto delle comorbidità.

Nell'introduzione tratteremo l'epidemiologia, l'eziologia ed i diversi metodi per ottenere la diagnosi e la terapia eziologica delle ulcere vascolari definite difficili.

Nella seconda parte presenteremo una revisione della letteratura sulle più recenti strategie di trattamento delle lesioni, con particolare attenzione alle terapie rigenerative.

In questa sezione si faranno riferimenti alle casistiche ambulatoriali e a tecniche di trattamento eseguite dal nostro gruppo di chirurgia vascolare.

## **EPIDEMIOLOGIA:**

Le ulcere degli arti inferiori rappresentano sempre più un'emergenza economico/sanitaria per vari fattori:

- L'elevata incidenza nella popolazione (1-2% nella popolazione generale e 3-5% nella popolazione anziana). <sup>(1,2,3)</sup>
- Le frequenti recidive e le comorbidità obbligano il paziente a ripetuti ricoveri ospedalieri ed interminabili management infermieristici sul territorio. <sup>(4,5)</sup>
- Le difficoltà nell'identificarne l'eziologia, spesso multipla, ne complicano la cura.
- In Italia, la distribuzione territoriale disomogenea dei centri dedicati, che sono in grado di arrivare ad una corretta e rapida diagnosi per offrire la miglior terapia, comporta che l'iter terapeutico sia troppo frammentato e privo di continuità.

Tutti questi fattori peggiorano la qualità di vita del paziente ed aumentano i costi sociali della malattia che, in studi condotti da O'Donnell e pubblicati nel 2006 sul "Journal Vascular Surgery", arrivano ad ammontare a 30000\$/anno per paziente. <sup>(6)</sup>

## **EZIOLOGIA:**

La maggior parte delle ulcere, circa il 70%, è riscontrabile in pazienti che presentano un'insufficienza venosa cronica (7). Quando questa è l'unica eziologia, come ben dimostrato in letteratura, un trattamento elastocompressivo, associato o meno a trattamenti chirurgici, porta sempre ad un miglioramento e, in un'elevata percentuale di pazienti (circa 80%), alla guarigione (8). Sempre più frequentemente (20-30%), in pazienti affetti da ulcere difficili (comparsa > 6 mesi) degli arti inferiori che non accennano alla guarigione, l'insufficienza venosa cronica è associata ad arteriopatia ostruttiva (9,10). Queste ulcere, definite ulcere miste, risultano, per diversi motivi che andremo ad analizzare, di difficile diagnosi e terapia.

La patologia venosa cronica e l'arteriopatia cronica ostruttiva sono, sempre più frequentemente, tra loro associate. L'aumento della vita media espone a un incremento dei fattori di rischio (obesità, sedentarietà, fumo, inquinamento) comuni alle due patologie (3,11).

In generale, si può arrivare ad affermare che, qualora l'eziologia dell'ulcera riconosca un contributo da parte di più patologie (epifenomeno di più patologie), le difficoltà o l'impossibilità a diagnosticarle e a risolverle renderà l'ulcera difficile.

Valutare il diverso contributo che varie patologie come quelle metaboliche, autoimmuni e della coagulazione ricoprono nella comparsa di lesioni trofiche e nel loro mantenimento potrà ridefinire, in futuro, il concetto di ulcera difficile.

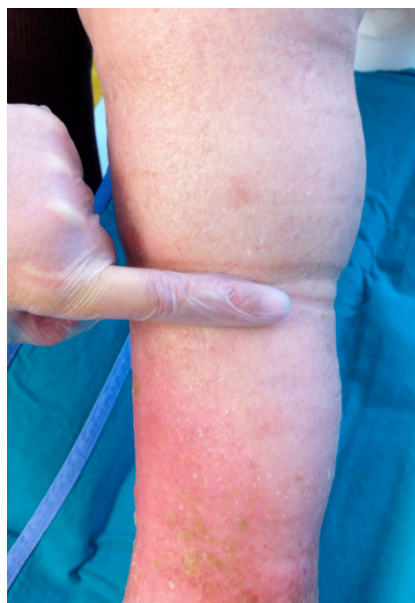
## **DIAGNOSTICA E CARATTERISTICHE MORFOLOGICHE DELLE ULCERE VASCOLARI**

<b>N</b>	<b>Ulcere venose</b>	<b>Ulcere arteriose</b>	<b>Le Ulcere miste presentano aspetti intermedi tra le arteriose e le venose.</b>
<b>Sede</b>	<b>Peri malleolare, tibiale</b>	<b>Cute sovra achillea, dita del piede</b>	
<b>Forma</b>	<b>Reniforme, irregolare</b>	<b>Rotondeggiante, regolare.</b>	
<b>Margini</b>	<b>Spessi, callosi</b>	<b>A stampo</b>	
<b>Fondo</b>	<b>Giallo fibrinoide</b>	<b>Necrotico</b>	
<b>Cute perilesionale</b>	<b>Iperpigmentata, edematosa</b>	<b>Fredda, cianotica</b>	
<b>Dolore</b>	<b>Ridotto</b>	<b>Elevato</b>	

Nelle ulcere miste la sottostima della componente arteriosa è molto frequente, soprattutto in pazienti con arti inferiori edematosi e con ulcere (spesso ampie). In questi arti, la clinica aiuta poco ed un semplice Indice Pressorio Caviglia-Braccio (ABI) è di difficile esecuzione se non, addirittura, impossibile (fig.) .



(fig.: ulcera mista che impedisce esecuzione ABI)



(fig.: importante edema ed infiammazione)



(fig. ampia lesione trofica bilaterale )

È importante ricordare che, tra i limiti dell'ABI, oltre a quelli dei casi appena descritti nei pazienti diabetici o in dialisi, l'incomprimibilità delle arterie tibiali, a causa delle calcificazioni parietali, rende non attendibile l'indice pressorio caviglia-braccio.

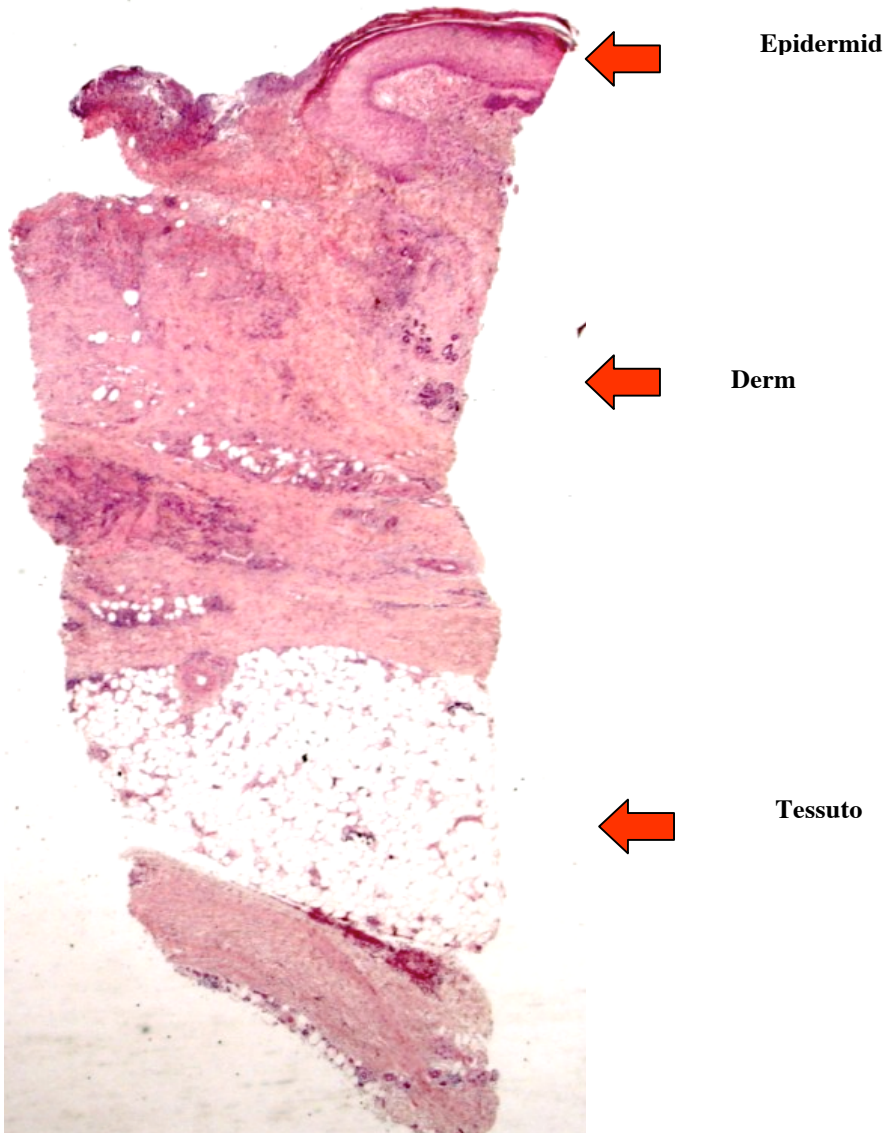
Si può giungere ad una diagnosi più corretta sottoponendo il paziente ad un esame eco color Doppler che valuti tutti i distretti arteriosi (aorto-iliaco-femoro-popliteo-tibiali) oppure misurando la TcPO<sub>2</sub> a livello del piede. Qualora permangano dubbi, come distretti non esplorabili per edema e lesioni trofiche, si può ricorrere all'angiografia.

Una corretta quantificazione della due distinte eziologie, nel sostenere l'ulcera, diviene fondamentale per offrire al paziente il trattamento più efficace.

In uno studio condotto dall'Unità Operativa di Dermatologia, con la collaborazione della Chirurgia Vascolare dell'Ospedale S. Orsola di Bologna, è stata cercata una correlazione tra eziologia vascolare ed istopatologia dell'ulcera. Da questo lavoro, condotto su 259 pazienti, che si sono rivolti consecutivamente all'ambulatorio dedicato alla cura delle lesioni aperte (ALA) ed affetti da ulcera di tipo vascolare, sono emersi dati molto interessanti.

Alla valutazione eco color Doppler eseguita a tutti i pazienti affetti da ulcera, sono state diagnosticate 181 (70%) insufficienze venose, 58 (22.4%) ulcere miste e 20 (7.7%) arteriopatie croniche ostruttive.

Sono state eseguite biopsie multiple di 3 mm, sia del fondo dell'ulcera che dei margini, a tutti i pazienti. I risultati degli studi istologici sono stati abbinati ai dati emodinamici di ognuno di loro (fig.).



(fig esecuzione di biopsia su margini e fondo dell'ulcera.)

Le caratteristiche istologiche di tutte le ulcere vascolari includono: croste, fibrina, ipercheratosi, paracheratosi ed infiltrazione neutrofila nell'epidermide. L'iperplasia epiteliale e la spongiosi sono state osservate solo nelle ulcere venose e miste (<sub>12</sub>).

Ulcere Venose	Ulcere Miste	Ulcere Arteriose
<p><b><u>epidermide:</u></b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• squamo-croste</li> <li>• iperortocheratosi</li> <li>• paracheratosi</li> <li>• iperplasia</li> <li>• spongiosi</li> <li>• accumulo di neutrofili</li> <li>• batteri</li> </ul> <p><b><u>derma:</u></b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• edema</li> <li>• tessuto di granulazione</li> <li>• fibrina</li> <li>• degenerazione del collagene</li> <li>• depositi di emosiderina (lunga durata)</li> <li>• fibrosi (lunga durata)</li> <li>• depositi di calcio endoluminali (lunga durata)</li> <li>• acroangiodermatite: vasi dilatati con parete ispessita costituite da</li> <li>• cellule endoteliali rigonfie (lunga durata)</li> </ul>	<p><b><u>epidermide:</u></b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• squamo-croste</li> <li>• iperortocheratosi</li> <li>• paracheratosi</li> <li>• iperplasia</li> <li>• spongiosi</li> <li>• accumulo di neutrofili</li> <li>• batteri</li> </ul> <p><b><u>derma:</u></b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• edema</li> <li>• tessuto di granulazione</li> <li>• fibrina</li> <li>• degenerazione del collagene</li> <li>• depositi di emosiderina (lunga durata)</li> <li>• fibrosi (lunga durata)</li> <li>• <u>talora trombi endoluminali, necrosi e sclerosi</u></li> <li>• depositi di calcio endoluminali (lunga durata)</li> <li>• acroangiodermatite: vasi dilatati con parete ispessita costituite da cellule endoteliali rigonfie</li> </ul>	<p><b><u>epidermide:</u></b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• squamo-croste</li> <li>• paracheratosi</li> <li>• talora necrosi</li> </ul> <p><b><u>derma:</u></b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• tessuto di granulazione</li> <li>• fibrina</li> <li>• trombi endoluminali</li> <li>• necrosi</li> <li>• sclerosi</li> <li>• depositi di emosiderina (lunga durata)</li> <li>• fibrosi (lunga durata)</li> </ul>

Recentemente, in letteratura, si dibatte su quali siano i migliori metodi non invasivi che consentono di giungere ad una corretta diagnosi eziologica dell'ulcera e di poter, così, offrire terapia e prognosi corrette.

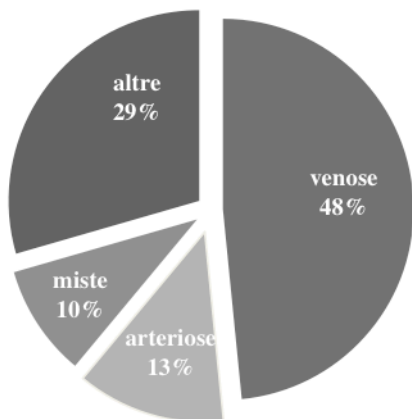
La biopsia del fondo dell'ulcera e dei margini rimane sicuramente importante, oltre che per ciò che riguarda l'esame istologico, anche per identificare biomarker o eseguire ricerche genetiche (13).

Attraverso la raccolta dell'essudato delle ulcere miste, sono state identificate una serie di citochine, chemochine e fattori di crescita pro infiammatori che stimolano la migrazione dei fibroblasti ed impediscono i normali processi di guarigione (14).

Probabilmente, in futuro (sul mercato esistono già semplici test per la quantificazione delle metalloproteasi presenti nell'essudato), sarà possibile ottenere degli score differenti per ogni tipo eziologico di ulcera che, in funzione della dimensione, dell'istologia e dei biomarkers, forniscano buoni standard di terapia e prognosi.

## DIAGNOSI DIFFERENZIALE: ULCERE VASCOLARI - ULCERE NON VASCOLARI

La diagnosi differenziale deve sempre essere accurata. Spesso, un'ulcera difficile deriva, infatti, da una diagnosi errata.



È necessario tener presente che circa il 30% delle ulcere non è di origine vascolare (artero-venosa) e che nel 10% c'è stata una trasformazione in senso neoplastico dell'ulcera (carcinoma a cellule basali).

Presso l'ambulatorio ALA del policlinico

S. Orsola, dal 2008 al 2011 su 211 pazienti presentatisi consecutivamente con ulcera attiva, nel 48% si trattava di ulcere venose, nel 13,4% ulcere arteriose e nel 10,3% ulcere miste. Nel restante 30% è stata posta una diagnosi differente: 9% carcinomi a cellule basali 8,1% ulcere vasculitiche 3,1% ulcere da pressione 2,1% ulcere post ustione 1% leucemia a linfociti t periferici 1% fibroadenoma eccrino 1% tiloma 1% verruche virali plantari ulcerate.

Flow chart di studio per il trattamento delle ulcere degli arti inferiori:

- esame clinico
- tampone su ulcera



- biopsia bordo e area centrale ulcera
- esame istologico
- ecocolor doppler artero-venoso
- consulenza chirurgica vascolare
- consulenza dell'anestesista per terapia antalgica
- identificazione del tipo di ulcera
- Trattamento

## **TERAPIA EZIOLOGICA:**

## **STILE DI VITA E NORME IGENICO/SANITARIE:**

Nella cura delle ulcere, l'obiettivo, oltre a guarirle, è quello di evitare la recidiva. Per questo motivo, tutti i cambiamenti nello stile di vita e nelle abitudini quotidiane atte a migliorare la circolazione arteriosa e venosa, sono sempre efficaci per perseguire entrambi questi scopi.

Tra questi cambiamenti di stile di vita, i più efficaci sono: stimolare il paziente ad una costante deambulazione, a perdere peso, a mantenere le gambe in scarico quando si è a riposo, ad astenersi dal fumo, a mantenere controllata la glicemia (utile anche un controllo periodico dell'emoglobina glicata) nei pazienti diabetici, oltre a stimolare a mantenere un'elevata igiene personale che limiti la popolazione batterica cutanea.

## **MEDICO:**

Recenti studi dimostrano come l'eziologia dell'insufficienza venosa cronica non sia da ricercare nello sfiancamento delle pareti e delle valvole venose. Questi rimodellamenti strutturali sarebbero, invece, la conseguenza dell'infiammazione cronica sostenuta da aumenti transitori e ripetuti della pressione venosa (es. prolungata stazione eretta, aumento ponderale, gravidanze, etc). Lo stimolo infiammatorio danneggia l'endotelio (glicocalice) e, di conseguenza, anabolismo e catabolismo dell'intera parete vasale si alterano.

Le linee guida americane, pubblicate nel 2011 sul "Journal Vascular Surgery" da Gloviczki, raccomandano, con un livello di evidenza 2B, l'utilizzo di farmaci vasoattivi (diosmina, esperidina, sulodexide, rutosidi, escina) nei pazienti con dolore e gonfiore dovuti a malattia venosa cronica e pentossifillina e flavonoidi, al fine di accelerare la guarigione delle ulcere venose. (15)

Questa terapia dell'insufficienza venosa cronica può essere considerata efficace e sicura, anche se l'eziologia è mista, poiché migliora il trofismo salvaguardando, allo stesso tempo, l'integrità dell'endotelio.

L'unico vero trattamento medico dell'arteriopatia cronica ostruttiva rimane il controllo dei fattori di rischio cardio-vascolari e delle patologie associate maggiormente ad arteriopatia cronica ostruttiva quali, per esempio, ipertensione, dislipidemia, diabete, insufficienza renale cronica, abitudine tabagica e obesità.

### **ELASTOCOMPRESSIVO:**

Il trattamento di scelta nelle ulcere ad eziologia puramente venosa rimane un bendaggio elastocompressivo multistrato ad elevata compressione associato o meno a trattamento chirurgico in base alla gravità e alle recidive (8). Anche nelle linee guida americane, pubblicate da Gloviczki, la terapia dell'ulcera venosa è l'elastocompressione con un livello di evidenza 1 B (15).

In una situazione emodinamicamente instabile, come quella che porta alla comparsa di ulcere miste, la terapia elastocompressiva è stata molto dibattuta in letteratura, oltre che criticata (8,16,17).

In questa patologia, l'elastocompressione migliora sicuramente il ritorno venoso e riduce l'edema, ma potrebbe ridurre il flusso arterioso.

È molto importante, a questo punto, fare chiarezza sui bendaggi elastocompressivi e, in particolare, su due aspetti: la pressione sotto bendaggio ed il grado di "stiffness" del bendaggio stesso.

La pressione sotto bendaggio, in questi pazienti, deve essere continuativamente misurata mediante strumenti pneumatici validati (Picopress) (18,19) e, contemporaneamente, bisogna controllare parametri quali la  $TcPo_2$  (>30 mmHg) e la pressione arteriosa a livello delle dita (> 30mmHg). (20)

Il grado di stiffness di un bendaggio è inversamente proporzionale all'elasticità dei materiali utilizzati. Un bendaggio ad elevato stiffness, il più indicato per le ulcere miste, presenta un ampio range pressorio condizionato essenzialmente dalla postura del paziente (la pressione esercitata dal bendaggio è massima quando il paziente è in posizione eretta). Queste differenze pressorie (clino-ortostatismo) permettono al paziente di sopportare il bendaggio anche a riposo e, cioè, quando la pressione arteriosa al piede è minima.

Come dimostrato da Mosti et. al., in un articolo pubblicato sul "Journal of Vascular Surgery" nel 2012, un bendaggio, che soddisfi queste caratteristiche, migliora il ritorno venoso migliorando anche la perfusione arteriosa del piede.

Se si applica, infatti, un bendaggio che eserciti una pressione compresa tra 30-40mmHg ad elevato stiffness, si ottiene un aumento significativo di ritorno venoso (Frazione Eiezione venosa della gamba valutata con pletismografia +103%), un aumento significativo sia della pressione arteriosa

alle dita del piede (+9%) che della TcPo<sub>2</sub> (+7%), con una riduzione non significativa (-4%) del flusso, valutato distalmente al bendaggio (dita) tramite laser Doppler.

Sebbene la terapia elastocompressiva, effettuata utilizzando bendaggi o calze elastiche, sia ancora comunemente considerata una controindicazione in pazienti affetti da arteriopatia cronica ostruttiva, perfino quando un concomitante disturbo venoso trarrebbe beneficio da questa pratica. Infatti, svariate linee guida, supportate più da esperienze cliniche che da outcome clinici, raccomandano di evitare l'elastocompressione quando ABI risulta < di 0.8.

In questo lavoro, è stato valutato il valore assoluto della pressione alla caviglia attribuendo a questo una valenza pratica superiore rispetto all'ABI. I pazienti che presentavano un basso indice pressorio caviglia-braccio e, allo stesso tempo, un valore di pressione arteriosa sistolica alla caviglia maggiore di 60mmHg, sono stati trattati mediante elastocompressione. Sebbene l'ABI sia generalmente utilizzato nella pratica clinica per valutare la severità dell'arteriopatia, il valore assoluto della pressione sistolica alla caviglia fornisce dati importanti per impostare un bendaggio elastico, poiché è evidente che ogni pressione esercitata dall'esterno non deve mai superare la pressione arteriosa (20).

È importante ricordare al paziente, affetto da ulcera mista e portatore di bendaggio elastocompressivo, di deambulare assiduamente.

## **CHIRURGICO:**

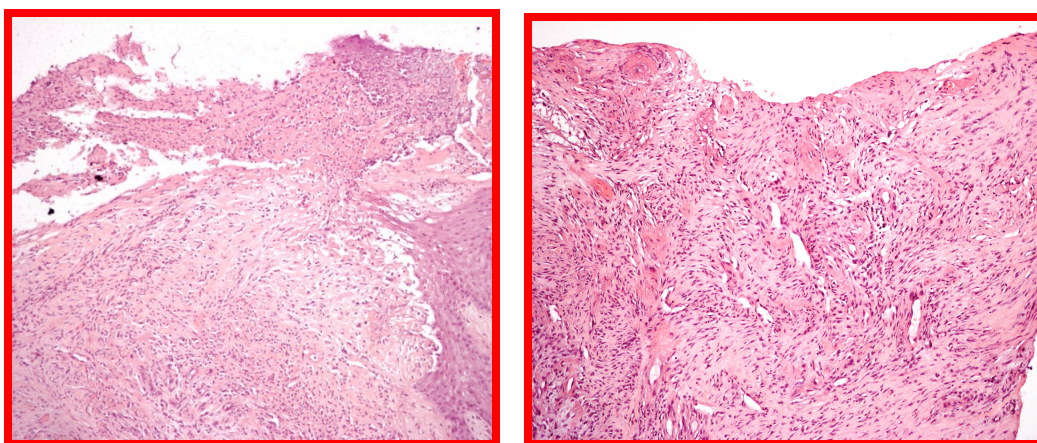
Oltre alla miglior terapia emodinamica, è molto importante attuare la miglior terapia locale a livello del letto e dei margini dell'ulcera.

La terapia dell'ulcera può essere attuata mediante svariati tipi di medicazioni locali: tradizionali, avanzate o bio-attive (sui quali in letteratura c'è molto poco e troppo spesso su piccole popolazioni campione) ma non può prescindere da due momenti: il debridement ed il controllo delle secrezioni.

Il debridement può essere sia meccanico che chimico. Quello meccanico si avvale di curette, bisturi ad acqua o bisturi ad ultrasuoni. Quello chimico può essere ottenuto sia ponendo sul fondo dell'ulcera farmaci capaci di sbrigliare l'ulcera (collagenasi) che, mediante autolisi (medicazioni occlusive che agevolano la digestione enzimatica dei tessuti non vitali stessi). In entrambi, lo scopo è quello di pulire dai tessuti non vitali e, quindi, pro-infiammatori il fondo dell'ulcera. (fig. 5)



Fig. 5. In alto letto di ulcera pre-post debridement; in basso visione al microscopio del fondo di un'ulcera mista pre-post debridement.



In un ampio studio condotto da Humphreys nel 2007, su un campione (1378 casi) eterogeneo di ulcere vascolari, i pazienti che presentavano un'arteriopatia moderato-severa concomitante all'insufficienza venosa, giungevano alla guarigione, rispettivamente nel 67% e nel 53% dei casi in 36 settimane, se sottoposti a rivascolarizzazione. (9)

La dimensione dell'ulcera e l'entità dell'arteriopatia cronica risultano essere, in letteratura, fattori indipendenti che condizionano la possibilità ed i tempi di guarigione (9,21,22) delle ulcere miste.

La scelta terapeutica (chirurgia open o procedura endovascolare) deve essere valutata in funzione sia dei distretti colpiti dall'arteriopatia che delle condizioni generali del paziente. Le ampie lesioni trofiche, l'edema, le distrofie cutanee e l'inadeguatezza della vena grande safena per un eventuale bypass sul distretto tibiale sono tutti fattori che rendono l'approccio chirurgico classico difficilmente proponibile in questi pazienti.

Analizzando i dati della letteratura, si nota come, dagli anni '90 ad oggi, le percentuali di guarigione delle ulcere miste sono progressivamente aumentate.

Nello studio di Ghaury del 1998, i pazienti affetti da ulcera mista e sottoposti a rivascolarizzazione, sono stati trattati con procedura endovascolare solo nel 23% dei casi. La percentuale di guarigione a 36 settimane è stata del 64% nelle arteriopatie moderate e nel 23% nelle severe. È importante

sottolineare come, in questo lavoro, la progressione della patologia aterosclerotica abbia portato a definire non rivascolarizzabili il 50% circa dei pazienti con arteriopatía cronica ostruttiva (23).

Confrontando le percentuali di guarigione riportate in questo lavoro con i risultati di Humphreys del 2007, ottenuti con trattamento endovascolare nel 56% dei casi (67% nelle arteriopatie moderate - 53% nelle arteriopatie severe) e con quelli di Lantis del 2011, anch'essi con trattamento endovascolare ma nel 100% (100% nelle arteriopatie moderato-severe) si nota come, in questi pazienti, l'evoluzione delle tecnologie endovascolari porti ad aumentare la percentuale dei pazienti rivascolarizzabili aumentando, di conseguenza, anche la percentuale di guarigioni delle ulcere.

Autore	N paz. trattati	endovascolare	Guarigione AS*	Guarigione AM**
Ghaury et al. (1998)	14	23%	23%	64%
Humphreys et al. (2007)	32	56%	53%	67%
Lantis et al. (2011)	27	100%	100%	

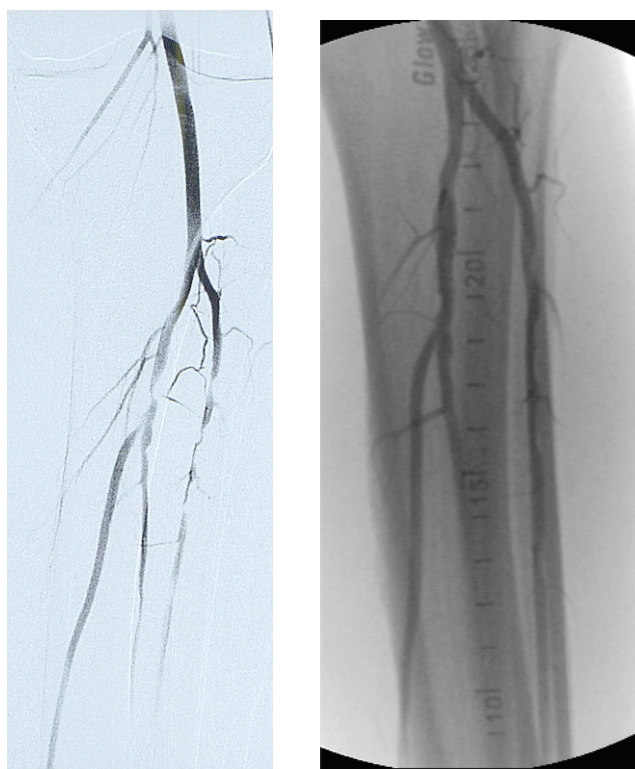
\*AS: arteriopatía severa. \*\*AM: arteriopatía moderata ( $0.5 < \text{ABI} < 0.8$ ).

Lantis, inoltre, descrive dettagliatamente sia la localizzazione delle lesioni arteriose che il tipo di trattamento. Nel 24% dei pazienti l'arteriopatía si distribuiva al distretto popliteo-tibiale ed in questi pazienti sono state effettuate, con successo, procedure endovascolari di aterotomia.

In un recente studio pubblicato da Lantis et al. su "Annals of Vascular Surgery", che valuta l'effetto della rivascolarizzazione endovascolare in pazienti affetti da ulcere miste è stato dimostrato come, una volta normalizzato il flusso arterioso (ABI medio preoperatorio  $0.55 \pm 0.21$  / ABI medio postoperatorio  $0.96 \pm 0.15$ ), il tempo medio di guarigione delle ulcere sia stato di 9.6 settimane, con un significativo ( $p < 0.05$ ) cambiamento nella traiettoria riportata sul grafico relativo ai tempi di guarigione, prima e dopo il trattamento (21).

Una volta trattata l'arteriopatía ed eseguito il bendaggio elastocompressivo (modificato per la presenza dell'arteriopatía), l'unico fattore in grado di condizionare i tempi di guarigione è rimasto la superficie totale dell'ulcera (21).

La possibilità di rivascularizzare il distretto popliteo-tibiale (fig. 4) con procedure mininvasive, anche se sono presenti lesioni TASC II D, permette di portare sangue alla gamba anche in assenza di una vena safena utilizzabile. Pazienti con ampie lesioni trofiche e distrofie cutanee possono essere rivascularizzati con successo.



(fig. Arteriografia pre e post procedurale in paziente con ampia lesione artero-venosa della gamba)

In alternativa all'opzione endovascolare, è risultato molto efficace utilizzare in questi pazienti un approccio ibrido (chirurgia prossimale + endovascolare tibiale) o chirurgico, in centri dove la rivascularizzazione venga eseguita usando, anche come graft, vasi da donatore crioconservati o le vene delle braccia (cefalica, basilica e mediana), dal momento che la vena grande safena non è utilizzabile e l'elevato rischio infettivo e la localizzazione spesso tibiale dell'arteriopatia non permette l'utilizzo di graft sintetici (Dacron e PTFE). In alternativa, possono essere usati arterie e vene crioconservate.

#### IL PROTOCOLLO da noi utilizzato:

I pazienti con Ulcera artero-venosa, con malattia arteriosa moderata ( $ABI > 0.5$  e che non presentano dolore a riposo), devono essere trattati con bendaggio elastocompressivo modificato (30mmHg alla caviglia).

Durante il bendaggio elastocompressivo modificato, i pazienti vengono costantemente sottoposti a controlli ambulatoriali atti a valutare la tollerabilità ed i miglioramenti dell'ulcera. Nell'eventualità di bendaggio non ben tollerato e/o fallimento a 3 mesi (aumento della superficie dell'ulcera, aumento del dolore, comparsa di una nuova area ulcerata), il paziente viene sottoposto a studio arterioso (ECD, ABI, TcPO<sub>2</sub>, eventuale arteriografia), ed è da prendere in considerazione un'eventuale rivascolarizzazione.

I pazienti che si presentano con malattia arteriosa severa (ABI<0.5 ) vengono subito sottoposti a studio ECD che, in caso evidenzia steno-ostruzioni aggredibili con procedura endovascolare, è sufficiente per porre indicazione. Qualora la patologia arteriosa si presenti multi distrettuale e con ostruzioni arteriose lunghe, si possono ipotizzare procedure ibride o chirurgiche, utilizzando come graft le vene del braccio o homograft crioconservati.

Questo approccio alla terapia eziologica dell'ulcera ha migliorato sensibilmente i risultati di guarigione negli ultimi anni. Il fatto che, ad oggi, recidivino in elevate percentuali e che, nel 20% circa dei pazienti, non si raggiunga mai la guarigione, fa desumere eziologie più complesse e a livello locale (dell'ulcera ) disregolazioni importanti tra processi catabolici ed anabolici.

Sempre più discusso in letteratura è il ricorso a terapie rigenerative e a innovazioni biotecnologiche, per cercare di guarire quelle ulcere che non tendono alla guarigione e che, ad oggi, vengono definite difficili.

## **LA TERAPIA LOCALE DELL'ULCERA**

Nei casi di ulcera vascolare di recente insorgenza, di dimensioni contenute e sostenuta da comorbidità note e correggibili, una terapia eziologica corretta (Es: rivascolarizzazione, elastocoppressione, ecc...) associata a medicazioni standard porta a guarigione il paziente.

In tutti quei pazienti in cui gli elementi eziologici dell'ulcera non siano completamente chiariti, o non siano completamente risolvibili, il perdurare della lesione trofica, come spina irritativa, innesci localmente dei fenomeni flogistici e di chemiotassi che porteranno a disregolazione tra catabolismo ed anabolismo tissutale. (Es.: incremento di metallo proteasi MMP9) (24).

## **LE INNOVAZIONI BIO-TECNOLOGICHE NELLA CURA DELLE ULCERE**

Oggigiorno, le opzioni per il trattamento delle ulcere ad eziologia vascolare sono molteplici.

Ognuna di esse presenta caratteristiche, indicazioni e costi molto specifici.

La letteratura sull'argomento è assai scarsa e, a maggior ragione in un periodo storico come quello che stiamo vivendo, un'attenta valutazione del rapporto costo/efficacia/indicazione, atta ad identificare il miglior trattamento per ogni paziente, è imprescindibile.

Tra le diverse opzioni terapeutiche a nostra disposizione, focalizzeremo l'attenzione sulla terapia a pressione negativa (TPN), sul gel piastrinico (PRP), sull'utilizzo di sostituti dermici sintetici (Hyalomatrix, Integra, ecc.) e sui fattori di crescita.

## **VALUTAZIONE DELL'EFFICACIA**

### **TERAPIA A PRESSIONE NEGATIVA (TPN)**

Il trattamento con pressione negativa si realizza mediante l'utilizzo di dispositivi che consentono un'applicazione controllata e localizzata di una pressione sub atmosferica in corrispondenza del sito dell'ulcera.

L'impiego della pressione negativa risale a migliaia di anni fa nella medicina cinese. I primi studi sperimentali di laboratorio evidenziarono come l'impiego di medicazioni in schiuma, alle quali veniva applicata una pressione negativa creata con una semplice unità di aspirazione murale o con aspiratori portatili, fosse in grado di promuovere la formazione del tessuto di granulazione e la conseguente riparazione tissutale delle ferite.

Le modalità attraverso le quali l'applicazione della pressione negativa ad una ferita può aiutare il processo curativo sono:

- retrazione della ferita;
- stimolazione della formazione del tessuto di granulazione;
- pulizia continua della ferita dopo debridement chirurgico;
- rimozione continua di fluido interstiziale (essudato);
- riduzione dell'edema interstiziale.

La retrazione della ferita mediante applicazione di pressione negativa rende i bordi più vicini e, allo stesso tempo, applica uno stress meccanico al tessuto. Lo stress applicato esternamente permette di creare micro deformazioni nelle cellule, con conseguente produzione di messaggeri cellulari responsabili dell'aumento della sintesi della matrice e della proliferazione delle cellule intorno alla



ferita. In diversi studi in cui è stata utilizzata la TPN, viene descritto un aumento della velocità di formazione del tessuto di granulazione; inoltre, la pulizia continua della ferita può ridurre il carico batterico presente nella ferita oltre a rimuovere le sostanze che inibiscono la guarigione. L'essudato che si accumula nella ferita può meccanicamente comprimere i capillari locali e restringere il flusso del sangue nella ferita: la sua rimozione riduce l'edema del tessuto e permette il flusso del sangue nell'area della ferita

Il sistema che permette di realizzare tale modalità è, in genere, costituito dai seguenti moduli:

- Un modulo di interfaccia e di controllo per operazioni di "input / output" dei dati, in genere costituito da display per la visualizzazione delle operazioni da effettuare, dei parametri impostati e del valore dei parametri erogati (tipicamente il valore della pressione espresso in mmHg) e da tasti per la selezione delle funzioni;
- Una pompa che genera pressioni negative, impostabili a diversi valori ;
- Un contenitore per la raccolta dell'essudato (canister), comprensivo di filtri;
- Una parte applicata alla ferita (schiuma o garza) di dimensioni e forme variabili in funzione della ferita da trattare;
- Un tubo generalmente in polietilene integrato nella parte applicata che veicola l'essudato al contenitore di raccolta.

La schiuma è ricoperta da un film trasparente che impedisce ai batteri di raggiungere la ferita e "sigilla" l'area della lesione permettendo la creazione del vuoto. Diversi fabbricanti producono schiume contenenti argento o antibiotici. Le garze non aderenti sono posizionate vicino al letto della lesione e la garza inumidita viene utilizzata per tamponare completamente la ferita. Possono essere anche utilizzate garze antimicrobiche. Una volta applicata, la garza viene ricoperta da un film trasparente adesivo, che anche in questo caso "sigilla" l'area della lesione. Un tubicino, con la parte distale inserita direttamente nella medicazione, permette di veicolare, grazie al vuoto creato dalla pompa, l'eccesso di essudato in un contenitore (canister) a bordo dell'apparecchiatura. Questo contenitore è collegato alla pompa del vuoto che fornisce pressione negativa, continua e intermittente, regolata a seconda della lesione. La pressione negativa viene applicata con valori nel range di 5-125 mmHg (pressioni più alte sono possibili a seconda dei dispositivi). I fabbricanti suggeriscono di cambiare la medicazione inizialmente ogni 48 ore e successivamente 2/3 volte a settimana. La terapia deve essere effettuata per almeno 22 ore al giorno. I dispositivi possono essere sia fissi che portatili, consentendo di erogare la terapia a pazienti ospedalizzati o domiciliari. La TPN è utilizzata in diversi setting: nel 40% a livello domiciliare, nel 29% a livello ospedaliero e nel 27% in strutture sanitarie di lunga degenza.

È stato dimostrato come questo tipo di trattamento, prolungato nel tempo, è in grado:

- aumentare l'irrorazione sanguigna locale
- ridurre l'edema
- promuovere la granulazione del tessuto sottostante e la sua riparazione
- stimolare la proliferazione cellulare
- eliminare dalla ferita detriti e liquidi che ne inibiscono e rallentano la guarigione
- ridurre la carica batterica
- avvicinare i margini della ferita

Rivista	Titolo	Esiti clinici
The Lancet 2005	Diabetic foot study consortium. Negative pressure wound therapy after partial diabetic foot amputation: a multicentre, randomized controlled trial.	Granulazione, riduzione della superficie, riepitelizzazione
J. of Wound Care 2005	An economic evaluation of the use of TNP on full- thickness wounds	Riduzione numero medicazioni settimanali
J. of Trauma 2006	Experience with wound VAC and delayed primary closure of contaminated soft tissue injuries in Iraq	Riduzione del rischio d'infezione
Plastic and Reconstructive Surgery 2006	The clinical efficacy and cost effectiveness of the vacuum-assisted closure technique in the management of acute and chronic wounds: a randomized controlled trial	Maggior controllo dell'essudato
Annals of Plastic Surgery 2009	Outpatient reconstruction using integra and subatmospheric pressure	Accelerazione del periodo di riabilitazione
American J. Of Surgery 2008	Resource utilization and economic costs of care based on a randomized trial of vacuum-assisted closure therapy in the treatment of diabetic foot wounds,	Riduzione dei costi per il trattamento dell'ulcera
International Wound Care	Impact of gauze-based NPWT on the patient and nursing experience in the treatment of challenging wounds	Riduzione costi per pz guarito di 4814£

### **Nella nostra esperienza:**

Utilizzata in tutti i pazienti arteriopatici, con la giusta indicazione (perdita importante di sostanza con amputazioni minori aperte, ampie fasciti necrotizzanti della loggia tibiale, deiscenze di ferite

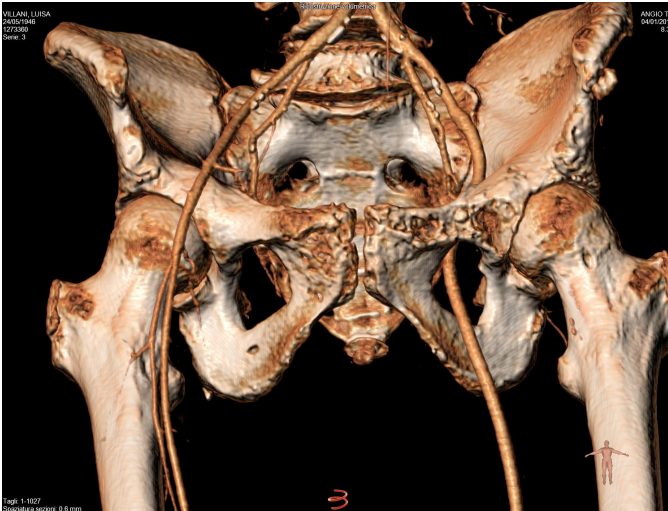
chirurgiche, ulcere con abbondante essudato) ha portato sempre a miglioramento clinico dell'ulcera in breve tempo.



Ampia lesione con perdita di sostanza post debridement chirurgico per lesione necrotica infeta.



Risultato a 90 giorni da inizio terapia a pressione negativa (45gg TPN cambio ogni 2gg, poi medicazioni con garza grassa)



Consulenza presso Ospedale Ortopedico Rizzoli: paziente con bypass extra anatomico per asportazione di ampia massa tumorale ossea a livello dell'articolazione coxo-femorale e della sinfisi pubica.



Ricontattati dopo 2 settimane ci si presenta questa situazione, con grave rischio di perdita dell'arto della paziente e possibilità limitate di chiusura della ferita.

E' stata posizionata per due settimane TPN ottenendo la bonifica del quadro, buon tessuto di granulazione che ha consentito la chiusura e la guarigione della paziente.





Unici limiti della metodica TPN da noi riscontrati nella nostra pratica clinica: lesioni artero-venose fortemente contaminate e molto essudanti nelle quali se si interrompe anche per poco tempo la TPN si trasformeranno in lesioni infette; zone di difficile cambio medicazione per difficoltà nel fare il vuoto (interdigitali, inguine per sudorazione, poca compliance del paziente); edema importante dell'arto (perdita giornaliera di 300-400cc di essudato con conseguente disprotidemia del paziente, cute perilesionale molto tesa e assottigliata con possibilità di flitteni e lesione da adesivo).

### **GEL PIASTRINICO (PRP gel)**

Secondo la definizione del Decreto Ministeriale datato 3 marzo 2005, con il termine gel piastrinico o Platelet-rich Plasma (PRP) si intende un emocomponente per uso topico, di origine autologa o allogenica, ottenuto dall'aggregazione di un concentrato piastrinico messo a contatto con calcio e fattori proaggreganti biologici (trombina) o farmacologici. Nel corso della formazione del coagulo, le piastrine liberano i fattori contenuti negli alfa granuli. L'uso topico del preparato, favorito dalle sue caratteristiche di plasticità e malleabilità alla sede di applicazione, favorisce ed accelera la riparazione tissutale sia cutanea che ossea. Esso trova il maggior impiego nella chirurgia maxillo-facciale, ortopedica e nella cura delle ulcere croniche cutanee. Il preparato può essere ottenuto da sangue intero predepositato o da donazione allogenica per frazionamento, con o senza reinfusione delle emazie, o da piastrinoferesi autologa o allogenica. Recentemente, è stato proposto ed utilizzato

(primo caso compassionevole) con buoni risultati, anche nella nostra sede, un gel piastrinico ottenuto da sangue cordonale da donatore.

Il gel ottenuto va utilizzato quanto prima, oppure congelato secondo tempi e modalità analoghi a quelli del plasma fresco congelato. In caso di origine allogenica, vengono eseguiti obbligatoriamente tutti gli esami per la validazione biologica.

Il suo razionale d'uso risiede nel fatto che le piastrine, di cui è ricco il P.R.P., rilasciano numerose sostanze che promuovono la riparazione tissutale e influenzano il comportamento di altre cellule modulando l'infiammazione e la neoformazione di vasi sanguigni. Le piastrine giocano, infatti, un ruolo fondamentale nel mediare la guarigione del tessuto danneggiato grazie alla capacità di liberare fattori di crescita, tra i quali il PDGF, il TGF  $\beta$ , il VEGF, l'IGF-1, l'FGF, e l'EGF. I granuli contenuti nelle piastrine sono anche una fonte di "citochine", "chemochine" e molte altre proteine variamente coinvolte nello stimolare proliferazione e maturazione cellulare, nel modulare l'infiammazione e attivare altre cellule regolando l'omeostasi tissutale ed i processi rigenerativi.

In una recente meta-analisi pubblicata dalla Cochrane collaboration nel 2012, sono stati messi a confronto terapia standard e terapia con PRP in termini di riduzione della superficie dell'ulcera.

La meta-analisi di 2 studi che soddisfacessero norme d'inclusione molto rigide (RCT), è stata condotta su di un totale di 47 pazienti arruolati ed ha decretato come dotata di significatività statistica la differenza tra i pazienti trattati con terapia standard e quelli trattati con PRP in termini di percentuale di lesione guarita (cm<sup>2</sup>).

Segue metanalisi di studi RCT utilizzando PRP gel nel trattamento delle ulcere croniche:

<b>Autore e Giornale</b>	<b>Titolo</b>	<b>Esiti clinici</b>
Driver et al. Ostomy/ Wound Management 2006	A prospective, randomized, controlled trial of autologous platelet-rich plasma gel for the treatment of diabetic foot ulcers	129 pz. Il 68,4% dei pz trattati con PRP hanno raggiunto la guarigione completa della lesione vs il 42,9% dei controlli. Durata media del trattamento 12 settimane.
Stacey et al. European Journal of Vascular and Endovascular Surgery 2000	Randomised double-blind placebo controlled trial of topical autologous platelet lysate in venous ulcer healing	68 pz. Non differenza statisticamente significativa tra pazienti trattati con PRP vs controllo.
Senet et al. Journal of Vascular Surgery 2003	Randomized trial and local biological effect of autologous platelets used as adjuvant therapy for chronic venous leg ulcers	15 pz. 26,2% di riduzione media dell'area delle lesioni trattate con PRP rispetto al 15,2% dei controlli. Un'ulcera guarita completamente in entrambi i gruppi al termine dello studio. Non differenza statisticamente significativa tra i due gruppi di trattamento.
Knighton et al. Surgery, Gynecology and Obstetrics 1990	Stimulation of repair in chronic, nonhealing, cutaneous ulcers using platelet-derived wound healing formula.	32 pz. Dopo 8 settimane l'81% dei pazienti trattati con PRP ha dimostrato riepitelizzazione della lesione vs 15% del controllo. Significatività statistica
Krupski et al. Journal of Vascular Surgery 1991	A prospective randomized trial of autologous platelet-derived wound healing factors for treatment of chronic nonhealing wounds: a preliminary report.	18pz. 26 ulcere croniche. 33% della ulcera trattata in maniera tradizionale guarite completamente vs 24% di quelle trattate con PRP.

		Non beneficio nel trattare le ulcere croniche con PRP.
Anitua et al. Journal of Biomedical Materials Research - Part B Applied Biomaterials 2008	Effectiveness of autologous preparation rich in growth factors for the treatment of chronic cutaneous ulcers.	15 pz. Percentuale di superficie della lesione riepitelizzata nel gruppo trattato con PRP pari al 72,94% vs 21,48% dei controlli. Durata media del trattamento pari a 8 settimane. Significatività statistica.
Weeds et al. Wounds: A Compendium of Clinical Research and Practice 2004	Autologous platelet lysate product versus placebo in patients with chronic leg ulcerations: a pilot study using a randomized, double-blind, placebo-controlled trial	26 pz. 9/15 pz hanno dimostrato riduzione della superficie della lesione vs 4/11 del controllo.

La grande eterogeneità che si riscontra in questi studi, pur avendo selezionato tutti studi prospettici randomizzati, riguarda le ulcere trattate: queste risultano essere, infatti, diverse sia per dimensione che per eziologia.

L'ambiente umido che si crea con un gel, di certo non è l'ideale in un'ulcera venosa che di per sé, trasuda e tende alla macerazione. La condizione opposta si verifica, invece, nelle ulcere provocate dall'ischemia critica di un arto. Tali lesioni sono secche e, se non infette, richiedono, per guarire, un ambiente umido che stimoli neoangiogenesi come il PRP.

In questa revisione, la terapia con PRP gel negli studi condotti su pazienti arteriopatici si è sempre dimostrata statisticamente efficace rispetto ai controlli.

#### **Nella nostra esperienza:**

Su casi ben selezionati di pazienti con lesioni molto dolenti (non sopportano TPN per dolore) da arteriopatìa, con ampia perdita di sostanza, in assenza d'infezione si è rivelato ottimo per ottenere una pronta granulazione e successiva guarigione.

Assolutamente da non utilizzare nelle lesioni artero-venose e in tutte le lesioni ad elevata essudazione (effetto di macerazione sui margini che supera gli effetti benefici)



PRP gel 2 volte alla settimana per 8 settimane poi garza grassa per 4 settimane con completa guarigione del paziente.



### **GEL PIASTRINICO da SANGUE CORDONALE (CB-PRP gel)**

Nella nostra Unità Operativa di Chirurgia Vascolare abbiamo fatto la prima esperienza in Italia, utilizzando PRP ottenuto da sangue cordonale nella cura di un'ulcera mista.

Tutti i campioni di PRP gel che sono stati somministrati al paziente sono stati, in parte, analizzati al fine di valutarne la concentrazione dei fattori di crescita.

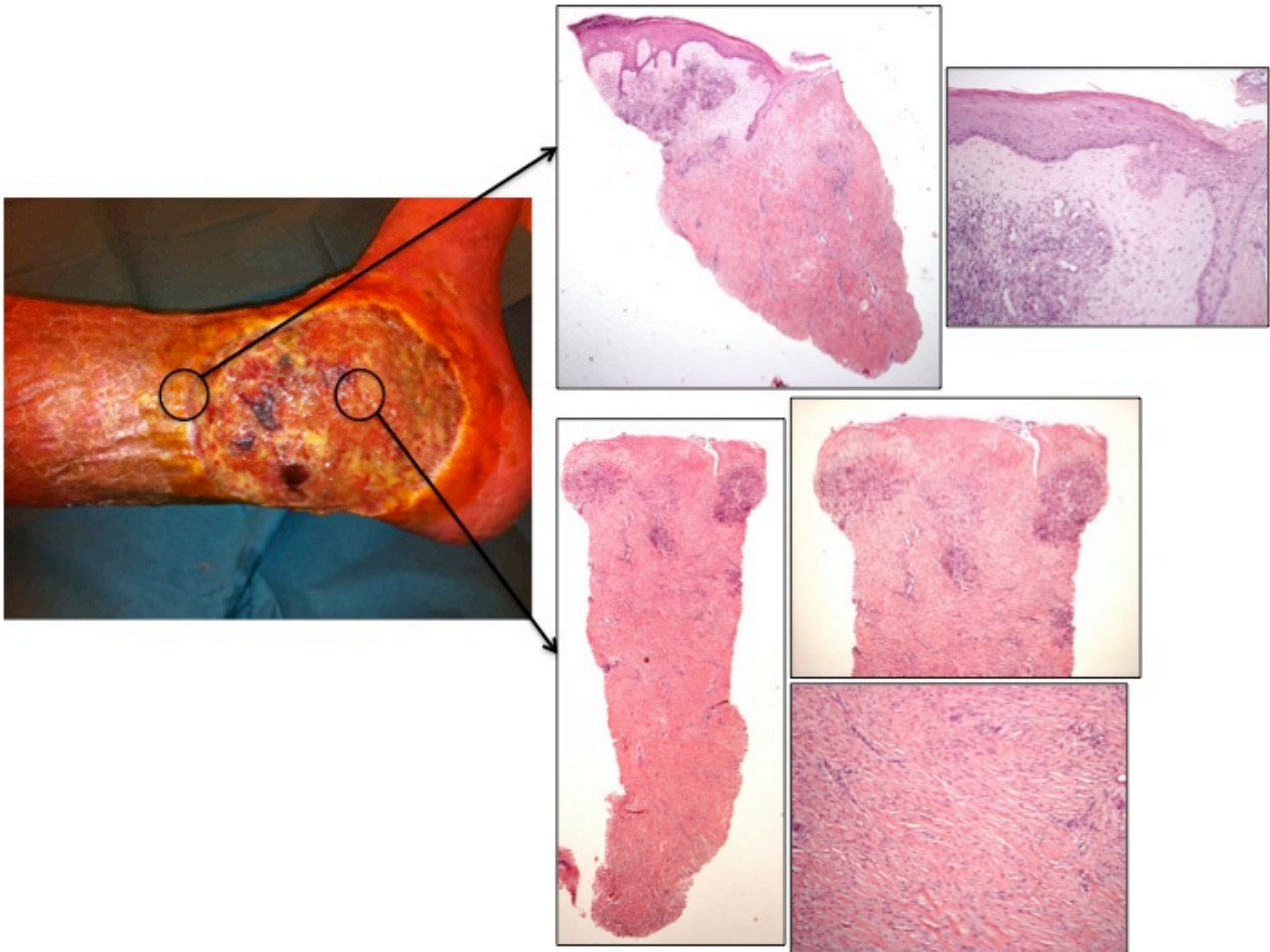
<b>campione</b>	<b>VEGF pg/ml</b>	<b>TGF-B pg/ml</b>	<b>EGF pg/ml</b>
<b>1</b>	<b>1168</b>	<b>72168</b>	<b>1579,2</b>
<b>2</b>	<b>1384</b>	<b>112160</b>	<b>2454</b>
<b>3</b>	<b>1003</b>	<b>67000</b>	<b>2144</b>
<b>4</b>	<b>&gt;&gt;</b>	<b>110880</b>	<b>2948</b>
<b>5</b>	<b>&gt;&gt;</b>	<b>89200</b>	<b>2618</b>
<b>6</b>	<b>1895</b>	<b>100640</b>	<b>2866</b>
<b>7</b>	<b>&gt;&gt;</b>	<b>70792</b>	<b>2290</b>
<b>8</b>	<b>1212</b>	<b>71760</b>	<b>2614</b>
<b>9</b>	<b>1477</b>	<b>67320</b>	<b>1754,2</b>
<b>10</b>	<b>1602</b>	<b>72408</b>	<b>1679</b>

La concentrazione dei fattori di crescita trovati in questi campioni di PRP da sangue cordonale è sempre stata molto maggiore rispetto alle concentrazioni degli stessi GFs in PRP ottenuto da sangue periferico come, del resto, già dimostrato da Parazzi V e pubblicato nel 2010 su Platelet. (25)

Il paziente da noi trattato (portatore dal 2001 di ulcera mista, sottoposto precedentemente a svariati trattamenti tra cui innesti dermici, innesti cutanei, PRP omologo senza successo) è stato sottoposto ad un ciclo di medicazioni ( una alla settimana per 16 settimane) con PRP da sangue cordonale.



Il risultato clinico ed istologico è stato molto incoraggiante: abbiamo ottenuto una riduzione del 65% della superficie dell'ulcera, una riduzione del dolore con sospensione della terapia antalgica e, all'esame istologico, un significativo aumento della neo-angiogenesi e della granulazione.



**Figure. 1**

Fig. 1a

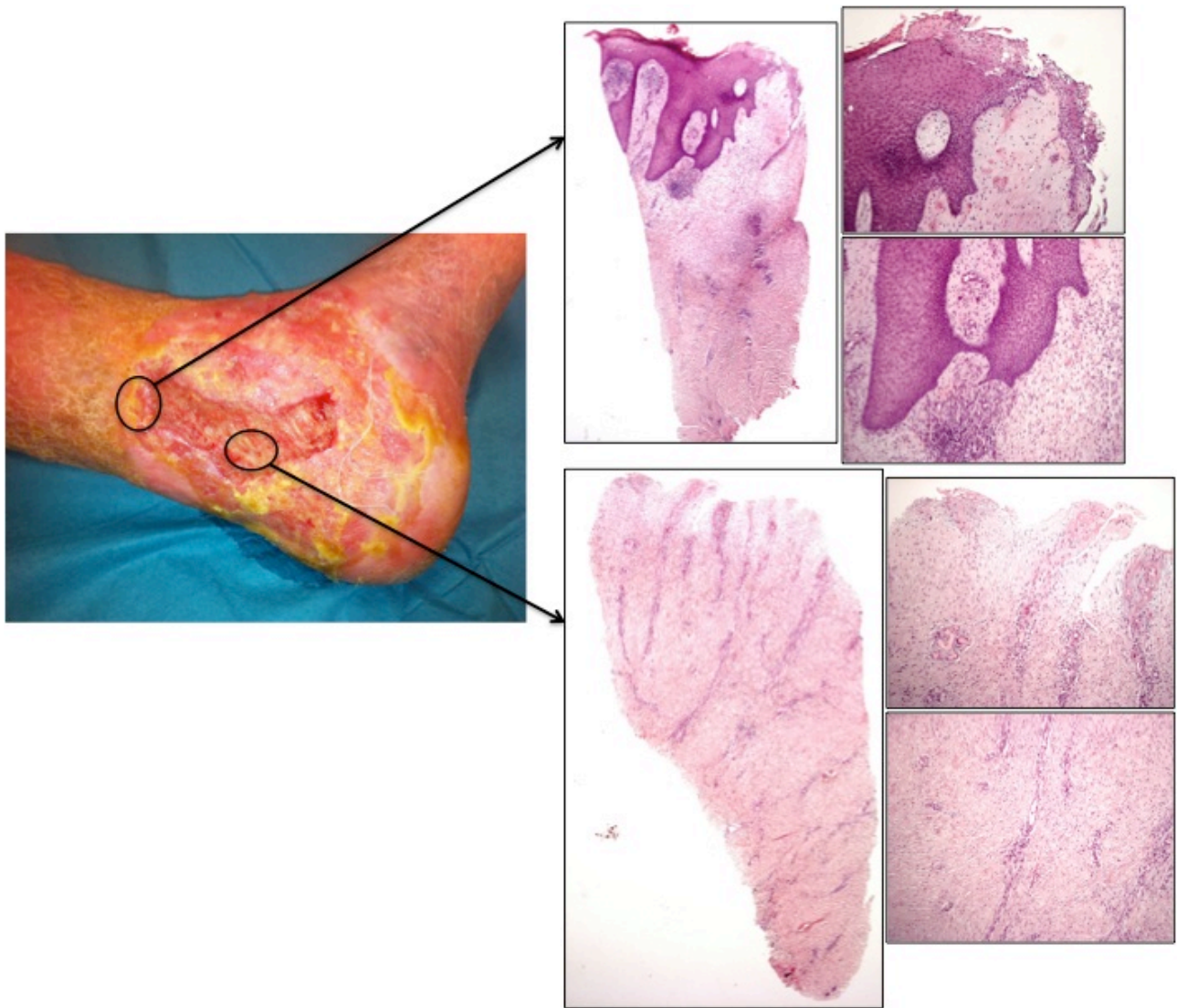
Aspetti clinici macroscopici dell'ulcera prima del trattamento

Fig. 1b

Iperplasia epidermica con spongiosi e a livello della zona di transizione tra la cute sana e l'ulcera il segno dello scalino. Edema e degenerazione dei fasci collagene nel derma. (H&E 4x; 10X).

Fig. 1c

A livello del letto dell'ulcera si reperta un tappo di fibrina che limita la granulazione a favore della fibrosi. (H&E 2x; 10x, 20x).



## Figure. 2

Fig. 2a

Aspetto clinico macroscopico dell'ulcera dopo la terapia (16 settimane), riduzione 65% superficie.

Fig.2b

Si evidenzia una marcata iperplasia del derma con papille evidenti. Aumento della neoangiogenesi con vasi dilatati (H&E 4x; 10x).

Fig.2c

Letto dell'ulcera pulito, senza fibrina e con prevalenza della granulazione (H&E 2x; 10x, 20x).

Nonostante gli straordinari risultati ottenuti il paziente non è mai guarito completamente e dopo ulteriori 6 mesi è stato amputato. In questo caso chiaramente vanno valutati gli effetti stimolanti la granulazione ( con riduzione della superficie) che il PRP ha avuto su un'ulcera che era presente da più di 10 anni e ferma almeno da 5.

## **SOSTITUTI DERMICI**

La cicatrizzazione di una ferita è un processo dinamico che coinvolge le interazioni tra le cellule, la matrice extracellulare (ECM) ed i fattori di crescita, elementi in grado di ripristinare il tessuto dopo il danno. La ECM ha un ruolo importante nel processo rigenerativo del tessuto ed è il componente principale del derma cutaneo. Nella composizione della ECM entrano a far parte proteoglicani, acido ialuronico, collagene, fibronectina ed elastina. Oltre a fornire un supporto strutturale alle cellule, alcune componenti della ECM si legano ai fattori di crescita, creando un serbatoio di molecole attive che possono essere rapidamente mobilizzate dopo un danno per stimolare la proliferazione e la migrazione cellulare. In molte ferite croniche, l'aumento del numero di cellule infiammatorie provoca l'innalzamento dei livelli di proteasi, che sembrano essere in grado di disgregare le componenti della ECM, i fattori di crescita, la proteina e i recettori essenziali per la cicatrizzazione.

Il riconoscimento dell'importanza della ECM nel processo di cicatrizzazione della ferita ha portato allo sviluppo di prodotti destinati a stimolare o a sostituire la ECM. Tra questi prodotti troviamo i sostituti dermici, sintetici o naturali, in grado di mimare le caratteristiche strutturali e funzionali della ECM nativa. Questi prodotti di ingegneria tissutale possono essere cellulari (contenenti cellule viventi) o acellulari (inerti biologicamente) e provenire da tessuti biologici di origine naturale (animale, umano, piante), materiali sintetici e materiali compositi (contenenti due o più composti che possono essere di natura biologica o sintetica).

Una volta posti sul letto della ferita, la matrice tridimensionale di questi prodotti è in grado di fornire una impalcatura temporanea e un supporto sul quale le cellule possono migrare e proliferare in maniera organizzata, portando alla rigenerazione del tessuto ed infine alla chiusura della ferita.

Studi clinici dimostrano come i sostituti dermici, a prescindere dalla loro origine, siano in grado favorire la guarigione delle lesioni, acute e croniche, in quanto:

- Agiscono da sostegno e supporto per la crescita cellulare e la formazione di tessuto di granulazione;
- Sono dotati di recettori che consentono l'attacco dei fibroblasti alla struttura di sostegno;
- Stimolano l'angiogenesi,
- Agiscono come un chemio-attrattore per le cellule endoteliali;
- Trattengono i fattori di crescita e li proteggono dalla degradazione.

Quando vengono usati come impianti i sostituti dermici, questi vengono completamente incorporati nella lesione. Nel trattamento di lesioni croniche, vengono invece rimossi e mai pienamente incorporati.

Il ruolo dei sostituti dermici nel trattamento delle lesioni croniche è ancora, in parte, da definire. È stato suggerito come esse agiscano come una copertura biologica in grado di modulare l'ambiente della lesione e di favorirne la normale cicatrizzazione.

La comprensione dei vantaggi clinici e dei limiti di ciascun prodotto è essenziale perché venga usato nella maniera più efficace e per ottenere un beneficio clinico per il paziente. Al momento, i dati pubblicati disponibili sull'argomento dotati di un sufficiente livello di evidenza sono scarsi, così come degli studi che mettano a confronto i prodotti in base all'indicazione di trattamento.

In letteratura, troviamo diversi studi in cui sono evidenziati i risultati positivi dei sostituti dermici nel trattare ulcere croniche quali: ulcere del piede diabetico, ulcere venose degli arti inferiori, ulcere ad eziologia mista (venosa/arteriosa) e ulcere da pressione (decubito).

Di queste, forniremo una review della letteratura più recente e significativa (più di 35 pazienti trattati).

### Lesioni di origine diabetica

Sostituto dermico usato	Tipo di lesione	Autore e rivista	Esiti clinici
Oasis (Xenotrapianto di sottomucosa intestinale suina del piccolo intestino)	Ulcera diabetica al piede	Niezgoda et al. Adv Skin Wound Care 2008	37 pz. Cicatrizzazione completa a 12 settimane ottenuta nel 49% dei pz sottoposti a trattamento con

			SD vs 28% dei controlli.
GraftJacket (allotrapianto di derivazione umana)	ulcere diabetiche arti inferiori	Winters CI et al. Adv Skin Wound Care 2008	100 pz, 91% di lesioni cicatrizzate completamente con l'utilizzo di SD. Non differenze stat. significative per quanto riguarda incorporamento della matrice. 100% di granulazione. Tempo di cicatrizzazione medio 13,8 settimane.
GraftJacket (allotrapianto di origine umana)	ulcere diabetiche arti inferiori	Brigido SA et al. Orthopedics 2004	40 pz. Chiusura della ferita nel 73% dei casi trattati con SD vs 34% dei controlli Cicatrizzazione completa a 12 settimane nell'85% dei pazienti trattati con SD vs 5% dei controlli.
GraftJacket (allotrapianto di derivazione umana)	Ulcera diabetica piede	Reyzelman et al. Int Wound J 2009	86 pz. Cicatrizzazione completa nel 69,6% dei casi trattati con SD. Tempo medio di cicatrizzazione completa 5,7 settimane nel gruppo trattato con SD vs 6,8 settimane nel gruppo controllo.
INTEGRA Bilayer Matrix (Membrana di silicone/ matrice collagene bovina ricostruita)	Ulcera diabetica piede	Iorio M et al. Plast Reconstr Surg 2010	Dimostra come la matrice di collagene a doppio strato è un'opzione fattibile quando è utilizzata per la ricostruzione e la chiusura stabile della lesione in pazienti a basso rischio di amputazione.

### Lesioni di origine venosa e mista.

Sostituto dermico usato	Tipo di lesione	Autore e rivista	Esiti clinici
Oasis (Xenotrapianto di sottomucosa intestinale suina del piccolo intestino)	Ulcera venosa arti inferiori	Demling et al. Wounds 2004	84 pz. Cicatrizzazione completa della lesione a 12 settimane nel 71% con SD vs 46% con terapia elastocompressiva.
Oasis (Xenotrapianto di sottomucosa intestinale suina)	Ulcera venosa arti inferiori	Mostow et al. J Vasc Surg	120 pz. Cicatrizzazione completa delle lesioni a 12

del piccolo intestino)		2005	settimane nel 55% dei casi trattati con SD vs 34% dei controlli. Non recidive al follow-up di 6 mesi nel gruppo trattato con SD.
Oasis (Xenotrapianto di sottomucosa intestinale suina del piccolo intestino)	Ulcere miste (venosa/arteriosa)	Romanelli et al. Int Wound J 2007	54 pz. Cicatrizzazione completa della lesione a 16 settimane nell'82,6% dei pz trattati con SD. I pz trattati con Sd riferiscono un beneficio significativamente superiore, meno dolore e sostituzioni meno frequenti delle medicazioni vs controllo.

## FATTORI DI CRESCITA AD USO TOPICO

I fattori di crescita (FC), inizialmente scoperti per la capacità di favorire l'attività mitotica di cellule in cultura prive di siero (<sub>26</sub>), sono in grado di stimolare la proliferazione, la migrazione e la differenziazione cellulare nonché l'espressione di proteine strutturali ed enzimatiche (<sub>27</sub>). Oltre che nel mantenimento dell'omeostasi cutanea, tali sostanze hanno dimostrato di avere un ruolo cardine nel coordinare i meccanismi del processo di riparazione tissutale, esercitando azione chemiotattica

su leucociti e fibroblasti, regolando l'angiogenesi e la proliferazione di diversi tipi cellulari e la sintesi di matrice extracellulare (28).

Tutte le cellule coinvolte nella riparazione tissutale sono in grado di sintetizzare un'ampia gamma di fattori di FC, il cui rilascio coordinato è indispensabile per una valida guarigione delle ferite (29).

Recenti studi hanno messo in evidenza come, nelle ferite croniche (30), si abbia una alterata attività dei FC tissutali riconducibile alla ridotta sintesi, all'aumentata distruzione e all'inattivazione. Campioni ottenuti da ulcere da pressione contengono livelli di PDGF, bFGF, EGF e TGF-beta marcatamente ridotti rispetto alle ferite acute a causa di una ridotta produzione (31). Ulcere venose e diabetiche presentano invece livelli normali di FC che restano tuttavia intrappolati tra i manicotti di fibrina che avvolgono i capillari all'interno di queste ultime (aumentata inattivazione). Nelle ferite croniche, d'altro canto, avviene spesso una rapida metabolizzazione dei FC per la presenza di proteinasi in grado di scindere questi peptidi (32). Queste proteinasi possono essere aumentate per la presenza di batteri, neutrofili, e metalloproteinasi, attori presenti in abbondanza in questo tipo di lesioni.

Il deficit di FC riscontrato nelle lesioni croniche e la possibilità di sintetizzare tali sostanze con la tecnica del DNA ricombinante hanno recentemente suggerito l'utilizzo terapeutico dei FC finalizzato alla accelerazione dei processi di riparazione tissutale: numerosi studi hanno valutato l'efficacia dell'applicazione di preparati topici contenenti FC in modelli animali con risultati incoraggianti (33-35). Attualmente, le possibili modalità terapeutiche che utilizzano FC sono: l'applicazione topica in formulazioni appropriate, la somministrazione per iniezione perilesionale e il trasferimento genico.

#### Fattore di crescita epidermico (EGF)

In modelli sperimentali umani EGF incrementa la velocità di riepitelizzazione ed induce la proliferazione delle cellule epidermiche basali, delle cellule endoteliali, dei fibroblasti e delle cellule muscolari lisce(36). L'EGF ricombinante umano (rh-EGF) applicato topicamente sulle lesioni croniche ha dato risultati contrastanti, soprattutto sulla capacità di incrementare la velocità di riepitelizzazione. (37,38). L'unico studio controllato, randomizzato, non multicentrico in doppio cieco che prevedeva due applicazioni al giorno di rh-EGF in soluzione acquosa, 10mg/mL, ha evidenziato una efficacia terapeutica ma statisticamente non significativa (39). Pertanto, l'uso terapeutico di rh-EGF non appare al momento soddisfacente.

#### Fattore di crescita di derivazione piastrinica (PDGF)

Il PDGF ha un ruolo in tutte le fasi del processo di riparazione tissutale, essendo prodotto da quasi tutte le cellule coinvolte nella riparazione delle ferite cutanee. Studi su modelli sperimentali, hanno evidenziato la capacità del PDGF di promuovere la chemiotassi delle cellule infiammatorie (specie macrofagi), di stimolare la formazione di tessuto di granulazione e di regolare il rimodellamento del connettivo neoformato <sup>(40)</sup>. Studi clinici multicentrici controllati e randomizzati in doppio cieco, hanno dimostrato l'efficacia di rh-PDGF-BB nel trattamento delle ulcere diabetiche <sup>(41-43)</sup> mentre studi clinici con follow-up ridotto hanno descritto l'efficacia di rh-PDGF-BB anche nel trattamento delle ulcere da pressione <sup>(44,45)</sup>. Rh-PDGF-BB è un omodimero prodotto con la tecnologia del DNA-ricombinante, inserendo nel lievito *Saccharomyces cerevisiae* il gene della catena peptidica B di PDGF. È formulato in gel acquoso di sodio-carbossi-metil-cellulosa (Regranex 0,01% gel). La posologia consigliata è di una applicazione al giorno. Regranex 0,01% gel è approvato dalla FDA (USA) per il trattamento delle ulcere diabetiche neuropatiche delle estremità che si estendono al tessuto sottocutaneo o oltre e che sono adeguatamente vascolarizzate.

#### Fattore stimolante le colonie granulocito-macrofagiche (GM-CSF)

Il razionale d'uso del GM-CSF nei difetti della riparazione tissutale è riconducibile alla capacità di questo FC di attivare le cellule infiammatorie, specie i macrofagi, presenti nell'ulcera cutanea <sup>(46)</sup>. In letteratura, tuttavia, sono presenti dati contrastanti sulla capacità di aumentare la resistenza della ferita alla trazione: un recente studio sperimentale su ratti diabetici, ha evidenziato che la somministrazione di GM-CSF incrementa la conta e l'attività fagocitica dei neutrofili e la concentrazione di idrossiprolina nella ferita ma non la resistenza alla trazione di quest'ultima <sup>(47)</sup>. In uomini volontari sani, iniezioni perilesionali di rh-GM-CSF non accelerano la velocità di guarigione ma incrementano solamente la concentrazione di interleuchina-8 (IL-8), suggerendo che GM-CSF possa avere un'azione terapeutica nei difetti della chemiotassi <sup>(48)</sup>.

In un unico studio controllato e randomizzato in doppio cieco, la singola iniezione perilesionale di rh-GM-CSF (400 microgrammi) ha dimostrato di accelerare la guarigione delle ulcere croniche venose ed arteriose degli arti inferiori <sup>(49)</sup>. Studi clinici sperimentali non controllati, oltre ad esperienze isolate, segnalano l'efficacia terapeutica di rh-GM-CSF per via iniettiva perilesionale nelle ulcere croniche degli arti inferiori, nei decubiti, nelle ferite post-chirurgiche e nelle ulcere neoplastiche <sup>(50-55)</sup>.

#### Fattori di crescita trasformanti-beta (TGF-beta)

Durante la riparazione tissutale, i TGF-beta hanno un ruolo nella formazione della cicatrice: l'iniezione sottocutanea di TGF-beta1 stimola la comparsa di miofibroblasti e la fibrosi tissutale



(<sub>56</sub>). In modelli animali TGF-beta accelera la guarigione delle ferite stimolando la riepitelizzazione, la deposizione di collagene ed incrementando la resistenza delle ferite alla trazione (<sub>57</sub>). Al momento, non esistono esperienze o studi clinici sull'uso di TGF-beta nel trattamento delle ulcere cutanee umane.

#### Fattore di crescita fibroblastica-basico (bFGF)

Il bFGF ha un ruolo cardine nella fase proliferativa e di rimodellamento della riparazione tissutale: in studi su modelli sperimentali l'applicazione topica di rh-bFGF stimola la formazione del tessuto di granulazione agendo su fibroblasti ed endotelioцитi, promuove l'attività collagenasica ed incrementa la resistenza alla trazione delle ferite ischemiche (<sub>58</sub>).

In letteratura sono presenti dati contrastanti sull'efficacia di rh-bFGF applicato topicamente: l'uso di questa citochina appare promettente nelle ulcere da pressione, mentre rh-bFGF si è dimostrato completamente inefficace nell'accelerare la guarigione delle ulcere diabetiche neuropatiche (<sub>59,60</sub>).

#### Hepatic Growth Factor (HGF)

Il fattore di crescita epatico (HGF) è stato scoperto per la prima volta nel 1984 come un mitogeno, presente nelle cellule epatiche, in attiva mitosi, dopo un'epatectomia parziale nel ratto (<sub>61</sub>).

Nello stesso anno, è stato identificato il recettore del HGF come il proto oncogeno C-MET (un ricettore tirosina chinasi) (<sub>62</sub>). L'HGF è una proteina dimerica composta da 2 subunità  $\alpha$  e una  $\beta$ . Esso viene secreto dalle cellule stromali in forma inattiva chiamata pro-HGF e viene attivato solo nel sito dove svolge la sua funzione ad opera dell'attivatore HGFA (HGF Activator); quest'ultimo, è una proteasi secreta principalmente dal fegato in forma inattiva per essere attivata dalla Trombina nella zona lesionata (<sub>63,64</sub>). Esistono, inoltre, inibitori della stessa HGFA, che vengono chiamati HAI 1 e 2 ( HGF Activator Inhibitor 1 e 2). Questo suggerisce che l'asse HGF-cMET sia altamente controllato.

Il C-MET è composto anch'esso da 2 subunità  $\alpha$  e  $\beta$ . La subunità  $\alpha$  è extracellulare mentre la  $\beta$  è transmembrana; quest'ultima, possiede un dominio intracellulare con attività tirosina chinasi che viene fosforilato e, di conseguenza, diventa attivo quando il recettore si lega al HGF, attivando una cascata di molecole intracellulare e svolgendo, quindi, le sue funzioni. Questa forma attiva del c-MET si chiama p-MET, appunto per il fatto di essere fosforilata.

Quando l'HGF lega il cMET, quest'ultimo si dimerizza e si autofosforila. Così facendo, viene attivato e si lega a substrati intracellulari come il Gab 1 e Grb2 e il fosfatidilinositol-3-chinasi (PI3K); si attiva, quindi, una cascata di secondi messaggeri che terminano con effetti nucleari come proliferazione (mitogenesi), motilità (motogenesi) e differenziazione strutturale (morfogenesi) e anche un effetto anti-apoptotico.

Il recettore dell'HGF, cMET, è espresso dalle cellule epiteliali in generale, e dalle cellule endoteliali epatiche e tubulari renali in particolare. Queste cellule costituiscono, quindi, i principali target dell'HGF, sui quali svolge la sua azione paracrina e anche endocrina (dato che circola nel sangue). L'HGF è coinvolto in diverse funzioni fisiologiche come la riparazione tissutale nel fegato, nel rene, nei polmoni, nella guarigione delle ferite e svolge un ruolo anti-infiammatorio, anti-apoptotico, antifibrogenico e angiogenico <sup>(65)</sup>. L'HGF svolge un'azione neoangiogenica terapeutica <sup>(67)</sup> tramite:

- Effetto anti-apoptotico sull'endotelio vascolare per via dell'induzione del Bcl-2 <sup>(66)</sup>.
- Effetto mitogenico e morfogenico e motogenico sul endotelio vascolare, quindi le cellule endoteliali proliferano e migrano nella zona ischemica per poi formare il lume di un nuovo vaso sanguineo.
- Azione antitrombotica <sup>(68)</sup> e di riduzione della permeabilità endoteliale, evitando l'edema <sup>(69)</sup>, diversamente dal VEGF. L'ipossia blocca la secrezione dell'HGF <sup>(70)</sup>, con conseguente perdita della vascolarizzazione peggiorando l'ipossia, instaurando così un ciclo vizioso, osservato soprattutto nell'AOC. In un modello di ischemia d'arto nel coniglio, l'iniezione locale di rh-HGF ha migliorato l'ipossia inducendo neo-angiogenesi <sup>(67)</sup>.

L'HGF attenua la transizione endotelio-mesenchimale, che si ritiene essere particolarmente rilevante nella fibrosi perivascolare, dovuta alla conversione delle cellule endoteliali in miofibroblasti <sup>(71)</sup>. Questo potrebbe avere un impatto significativo nel contesto di CLI, dove l'inibizione della fibrosi vascolare impedirebbe la progressione della malattia. Per tutti gli effetti benefici che ha su una grande varietà di cellule ed organi, l'HGF è stato studiato in vari trials per un uso terapeutico in diverse malattie, di cui alcuni esempi sono: epatite acuta, colestasi, infarto renale, sindrome nefrotica, infarto polmonare, infarto miocardico, erosione gastrica, colite, diabete mellito tipo I, mirositi e guarigione delle ferite.

In questa sede, parleremo dei trial interessanti per questa review, ovvero quelli che riguardano la neo-angiogenesi indotta dal HGF come soluzione o adiuvante nella terapia della CLI, e la guarigione delle ferite. Mentre gli sforzi iniziali per il trattamento di CLI, utilizzando la terapia genica pro-angiogenica, hanno mostrato un successo limitato nel corso degli studi clinici <sup>(72)</sup>, studi

di fase II che esaminano l'efficacia di HGF si sono rivelati incoraggianti (Powell et al, 2008 <sup>(73)</sup>; Shigematsu et al, 2010 <sup>(74)</sup>). Esaminando una popolazione inoperabile di pazienti di CLI (Rutherford stadi III e IV) e considerando la guarigione delle ulcere come endpoint primario, i pazienti trattati con HGF hanno avuto dei miglioramenti rispetto a quelli trattati con placebo, rispetto anche alla qualità di vita. È importante notare che nello studio di Shigematsu et al. <sup>(74)</sup>, si è visto un miglioramento delle lesioni nel 100% nei pazienti con ulcere (Rutherford V), trattati con l'iniezione intramuscolare di HGF, rispetto al 40% del gruppo placebo.

In uno studio più recente di Powell et al 2010 <sup>(75)</sup>, pazienti con CLI (Rutherford 5 e 6) hanno ricevuto tre serie di otto iniezioni intramuscolari, effettuate ogni 2 settimane, di HGF plasmide sotto guida ecografica duplex. Le sedi di iniezione sono state personalizzate per ciascun paziente sulla base dell'arteriografia. L'endpoint primario di sicurezza è stato considerato l'incidenza di eventi avversi (AE) o eventi avversi gravi (SAE). End-point clinici hanno incluso una variazione dell'indice alluce/braccio (TBI) rispetto al basale, una valutazione del dolore a riposo su una scala visiva 10 centimetri analogica (VAS), così come la guarigione delle ferite, l'amputazione, e la sopravvivenza a 3 e 6 mesi. I risultati erano: TBI e VAS significativamente migliorati rispetto al basale a 6 mesi nel gruppo trattato con HGF rispetto al placebo. La completa guarigione dell'ulcera a 12 mesi si è verificata nel 31% del gruppo di HGF e 0% del placebo. Non c'era alcuna differenza di amputazione maggiore e mortalità tra i 2 gruppi. Lo studio conclude, pertanto che l'uso di HGF è sicuro e il miglioramento clinico è significativo. Anche in questo caso, sono necessari ulteriori studi.

Di recente, sono apparsi i risultati di due studi di fase I che hanno testato la sicurezza della terapia genica a duplice isoforma di HGF in CLI (Gu et al, 2011 <sup>(76)</sup>; Henry et al., 2011 <sup>(77)</sup>). Gli esseri umani esprimono due isoforme di HGF: cHGF (HGF728) e dHGF (HGF723), che sono il risultato di 2 scissioni diverse dello stesso gene (Seki et al., 1991 <sup>(78)</sup>). Queste due isoforme agiscono sinergicamente, e questo giustifica lo sforzo di combinare queste 2 isoforme in un singolo vettore per la terapia genica. Entrambe le sperimentazioni hanno dimostrato il miglioramento dei livelli di dolore, l'aumento della tensione di ossigeno transcutanea e la guarigione delle ulcere senza effetti avversi.

Un altro studio, non controllato ma interessante, è lo studio di Nayeri F et al. 2002 <sup>(79)</sup>, che è stato effettuato per verificare gli effetti del HGF sulla guarigione delle ulcere croniche. HGF in gel è stato applicato localmente, una volta al giorno per 7 giorni a 15 di 19 ulcere croniche in 11 pazienti anziani. È stato osservato come la perfusione micro circolatoria, che potrebbe riflettere l'effetto angiogenico di HGF, fosse significativamente correlata alla riduzione dell'area delle ulcere nelle ulcere trattate. Una guarigione eccellente (84-100% riduzione dell'area) o parziale (58- 59%) è stata

osservata in 8 su 11 pazienti. Questo studio suggerisce, quindi, che l'HGF possa guarire ulcere croniche, possibilmente migliorando la microcircolazione. Studi di controllo appropriati sono comunque necessari a conferma.

Da quanto detto in precedenza, risulta che l'HGF è un fattore di crescita molto promettente per un uso terapeutico, adiuvante la guarigione di ulcere e ferite chirurgiche e la riduzione del dolore a riposo nei pazienti che soffrono di CLI. Gli studi di fase I e II condotti hanno verificato la sicurezza dell'iniezione del plasmide HGF. Ulteriori studi, meglio strutturati e più standardizzati, sono, tuttavia, necessari per poterne proporre un uso terapeutico routinario.

In conclusione, possiamo affermare che i FC hanno un ruolo importante nella guarigione delle lesioni cutanee poiché regolano e coordinano le varie fasi della riparazione tissutale (<sup>80</sup>).

Numerosi studi sperimentali in vitro e in vivo hanno documentato gli effetti benefici dell'applicazione esogena di FC nei difetti di guarigione tissutale (<sup>81-83</sup>). A questi promettenti risultati non sono, tuttavia, seguite risposte altrettanto positive in esperienze e trials clinici (<sup>84,85</sup>). Questa discrepanza è verosimilmente dovuta al fatto che gran parte degli studi clinici effettuati non ha considerato i numerosi fattori di disturbo presenti nella casistica umana che rendono difficile valutare la reale efficacia della terapia con FC. Tra questi fattori di disturbo ricordiamo: l'ischemia/ipossia tissutale, la sovrainfezione batterica, l'età e le condizioni generali del paziente, la sede delle lesioni, la patologia sottostante la lesione cronica e la gravità dell'ulcera cutanea.

L'eliminazione dei fattori di disturbo è, dunque, il presupposto fondamentale per una corretta valutazione dell'efficacia terapeutica dei FC. Al momento, pochi studi clinici con FC sono adeguatamente controllati, randomizzati in doppio cieco e pochissimi hanno tenuto conto della presenza di fattori di disturbo: questo rende, al momento, estremamente problematica la valutazione della reale efficacia di questo approccio terapeutico.

Segue una breve review dei lavori più significativi effettuati sull'utilizzo dei fattori di crescita, nel trattamento delle lesioni degli arti inferiori ad eziologia vascolare e diabetica.

Autore, Rivista, Anno	Titolo	Fattore di crescita	Esito clinico
Wieman TJ et al. Diabetes Care 1998	Efficacy and safety of a topical gel formulation of recombinant human platelet derived growth factor BB (Becaplermin) in patients with chronic neuropathic diabetic ulcers	PDGF-BB	383 pz. Incremento significativo dell'incidenza di guarigione completa delle lesioni e riduzione significativa del tempo di chiusura completa della lesione
Steed DL et al. J Vasc Surg 1995	Clinical evaluation of recombinant human platelet derived growth factor for the treatment of lower extremity diabetic ulcers.	Rh-PDGF-BB	61 pz. Una applicazione al giorno di rhPDGF-BB si è dimostrata sicura ed efficace nello stimolare la guarigione a pieno spessore delle ulcere diabetiche neuropatiche trattate. (48% delle ulcere trattate con GF chiuse completamente vs 25% dei controlli)
Tsang MW et al. Diabetes Care 2003	Human epidermal growth factor enhances healing of diabetic foot ulcers	hEGF	61 pz. I risultati supportano l'utilizzo dell'hEGF che si è dimostrato in grado di diminuire il tempo di guarigione completa e di migliorare l'esito nelle ulcere diabetiche.
Nayery F et al J Dermatology Treat 2002		HGF gel	11 pz. Tratt riduzione dell'area dell'ulcera in 8 degli 11 pazienti dell'80-100%. Con significativo incremento della neoangiogenesi.
Hardikar JV et al Wounds 2005	Efficacy of recombinant human platelet derived growth factor (rhPDGF) based gel in diabetic foot ulcers: a randomized, multicentric study.	Rh-PDGF	55 pz. Dopo 10 settimane di trattamento 71% dei pazienti trattati con rh-PDGF hanno mostrato guarigione completa della lesione vs 31% dei pz trattati con placebo.

## Conclusioni

Quello che emerge da questo lavoro di revisione della letteratura associato ad una revisione critica dell'esperienza maturata nel corso dell'attività assistenziale presso il Policlinico S.Orsola-Malpighi di Bologna è che la giusta cura eziologica associata alla giusta cura locale della lesione trofica ha portato sempre ad un rapido miglioramento clinico delle lesioni e alla successiva guarigione.

Il limite principale riscontrato nella cura delle lesioni ulcerative degli arti inferiori è proprio stato quello di riuscire a risolvere le diverse eziologie associate nel singolo paziente: arteriopatia cronica ostruttiva, insufficienza venosa cronica, infezioni, linfedema, diabete mal controllato, insufficienza renale cronica, insufficienza epatica, anemia, disproteidemia, carenze igieniche, carenze alimentari.

Se non si risolvono la maggior parte di queste patologie, che spesso sono associate in rapporto variabile, nel singolo paziente, diventa impossibile guarire la lesione trofica e qualsiasi metodica, anche una medicazione semplice, appare sprecata.

Una presa in carico del paziente a 360 gradi (valutando tutte queste variabili) ovviamente, nel contesto della nostra unità operativa, è stata possibile solo per un numero limitato di pazienti. Non essendo organizzati in nessun ospedale percorsi diagnostico-terapeutici dedicati per questi pazienti il tutto si riesce ad organizzare solo per pochi pazienti e con un dispendio enorme di energie non ricavandone tra l'altro dati con significatività statistica utili per la ricerca.

Sicuramente queste nuove metodiche descritte necessitano di un continuo studio per migliorarne l'applicazione e validarne l'utilizzo e quindi giustificarne gli elevati costi.

Precisazione importante, prima di parlare di rapporto costo-efficacia, è avere anche un'idea ben chiara dei costi del problema ulcera in senso assoluto.

Come pubblicato su Diabet care nel 1990, i costi per ulcera/anno nel paziente diabetico sono: <sup>(86)</sup>

- 5000-8000\$ Ulcera cronica
- 15000\$ Ulcera cronica infetta
- 25000-30000\$ Ulcera con osteomielite
- 50000-150000\$ Amputazione
- 1000\$ costi per la prevenzione

In una recente revisione pubblicata su Plebology (2010), <sup>(87)</sup> vengono analizzati i costi diretti ed indiretti della malattia venosa cronica. Anche in questa patologia, gran parte dei costi è rappresentato dalla cura e dalla prevenzione delle ulcere. L'elevato costo e la frequenza del problema, conclude la revisione, rendono necessari studi costo-beneficio atti a chiarire se convenga o meno aumentare la sorveglianza e la cura dei disturbi venosi all'esordio evitando la comparsa dell'ulcera. <sup>(87)</sup>

In uno studio Svedese del 2002, il costo per l'ulcera venosa è stato calcolato pari a 101 Euro/sett., con un costo annuo totale di 73 milioni di euro per la cura delle sole ulcere venose. Da notare che

una gestione meglio strutturata dei pazienti, affetti da ulcera, ha fatto dimezzare i costi annui dal 2001 al 2002. <sup>(88)</sup>

Nel 2008 in Germania, sono stati analizzati tutti i costi dell'ulcera venosa, che ammontano a 9.569 euro/ulcera/anno, di cui il 92% costi diretti e 8% costi indiretti. Tra i costi indiretti, è di grande importanza la perdita di giorni lavorativi.<sup>(89)</sup> Negli Stati Uniti d'America, solo nel 2002, si sono persi per ulcera venosa 2 milioni di giorni lavorativi <sup>(90)</sup>.

Avendo un'idea chiara dei costi relativi alle ulcere (diabetiche da arteriopatia grave e venose), risulta evidente come risolvere un'ulcera faccia risparmiare annualmente tantissime risorse e come, di conseguenza, risultino necessari nuovi studi costo-efficacia.

Come dimostrato dagli studi, seppur da ampliare, sull'efficacia di queste nuove bio-tecnologie, la loro partecipazione nelle cure delle ulcere ne agevola la guarigione. Il loro costo rende indispensabile una nuova definizione di ulcera difficile che possa giustificare l'utilizzo anche in relazione al numero di comorbidità non-risolvibili siano presenti contemporaneamente sul singolo paziente per arrivare alla definizione di lesione guaribile-non guaribile. Con il definitivo superamento della definizione di ulcera difficile che oggi appare incompleta, perché è difficile?

Analizzando nel suo insieme il contenuto di questa tesi, appare chiaro come due fattori condizioneranno, alla fine, la guarigione dell'ulcera:

- Risoluzione delle cause (ulcera come epifenomeno di più comorbidità)
- Velocità di guarigione, per evitare il progredire dello stato infiammatorio locale al quale si associano infezioni e viraggi in senso neoplastico.

La nuova definizione di ulcera difficile dovrà, per tanto, derivare dalla quantificazione di queste diverse componenti (eziologiche e locali) che ne sono la causa e la mantengono.

## BIBLIOGRAFIA:

- 1) Adhir Kar A, Criqui MH, Woll V, Denenburg JO, Frone KA, Langer RD et al. The epidemiology of chronic venous disease. *Phlebology* 2000; 15:2-18.
- 2) Nelzen O. Prospective study safety, patient satisfaction and leg ulcer healing following saphenous and subfascial endoscopic perforator surgery. *Br J Surg* 2000; 87:86-91.
- 3) Mekkes JR, Loots MAM, Van Der Wal AC, Bos JD. Causes, investigation and treatment of leg ulceration. *Br J Dermatol* 2003; 148:388-401.
- 4) Fowkes FGR. Epidemiology of chronic venous insufficiency. *Phlebology* 1996; 11:2-5.
- 5) Nelzen O, Bergquist D, Lindhagen A. The prevalence of chronic lower limb ulceration has been underestimated: results of a validated population questionnaire. *Br J Surg.* 1996; 83:255-258.
- 6) O'Donnell TF Jr, Lan J. A systematic review of randomized controlled trials of wound dressings for chronic leg ulcer. *J Vasc. Surg.* 2006; 44:1118-1125.
- 7) Baker SR, Stacey MC, Jopp-Mckay AG, Hoskin SE, Thompson PJ. Epidemiology of chronic venous ulcers. *Br J Surg.* 1991; 78:864-867.
- 8) Gohel MS, Barwel JR, Taylor M, Chant T, Foy C, Earnshaw JJ, et al. Long term results of compression therapy alone versus compression plus surgery in chronic venous ulceration: randomized controlled trial. *Br Med J.* 2007
- 9) Humphreys ML, Stewart AH, Gohel MS, Taylor M, Whyman MR, Poskitt KR. Management of arterial and venous leg ulcer. *Br. J Surg.* 2007; 97:1104-1107.
- 10) Nelzen O, Bergquist D, Lindhagen A. Venous and non venous leg ulcers: clinical history and appearance in a population study. *Br J Surg.* 1994; 81:182-187.
- 11) Margolis DJ, Bilker W, Santana J, Baumgarten M. Venous leg ulcer: incidence and prevalence in the elderly. *J Am Acad Dermatol* 2002; 46:381-6.
- 12) Misciali C, Deika E, Sgubbi P, Baraldi C, Patrizi A, Fanti P.A, Mirelli M, Stella A. Defining histopathologic criteria as a diagnostic tool in leg ulcers: a clinical pathologic study of 259 patients. *Journal American Academy of dermatology.* In press
- 13) Shih B, Sultan MJ, Chaundhry IH, Tan KT, et al. Identification of biomarkers in sequential biopsies of patients with chronic wound receiving simultaneous acute wounds: a genetic, histological and non invasive imaging study. *Wound rep reg* 2012; 20:757-769
- 14) Kroeze KL, Vink L, et al. Simple wound exudate collection method identifies bioactive cytokines and chemokines in arterio venous ulcer. *Wound Rep Reg.* 2012; 20:294-303.
- 15) Gloviczki P, Anthony J, Comerota, Michael C, Dalsing, Bo G, Eklof, David L, Gillespie, Monika L, Gloviczki, Joann M, Lohr, et al. The care of patients with varicose veins and associated chronic venous diseases: Clinical practice guidelines of the Society for Vascular Surgery and the American Venous Forum *J Vasc Surg* 2011; 53: 2S-48S.
- 16) Zimmet SE. Venous leg ulcers: modern evaluation and management. *Dermatol Surg.* 1999; 25: 236-41.
- 17) O'Meara S, Cullum NA, Nelson EA. Compression for venous leg ulcers *Cochrane Database Syst Rev* 2009; CD 000265.
- 18) Mosti G, Partsch H. Measuring venous pumping function by strain-gage plethysmography. *Int Angiol* 2010; 29:421-5.
- 19) Partsch H, Mosti G. Comparison of three portable instruments to measure compression pressure. *Int Angiol.* 2010; 29:426-30.



- 20) Mosti G, Iabichella ML, Partsch H. Compression therapy in mixed ulcers increases venous output and arterial perfusion. *J Vasc Surg* 2012; 55:122-8.
- 21) Lantis JC, Boone D, Lee L, Mendes D, Benvenisty A, Todd G. The effect of percutaneous intervention on wound healing in patients with mixed arterial venous disease. *Ann Vasc Surg* 2011; 25:79-86.
- 22) Marston WA, Carlin RE, Passman MA, Farber MA, Keagy BA. Healing rates and cost efficacy of outpatient compression treatment for leg ulcers associated with venous insufficiency. *J Vasc Surg* 1999; 30: 491-8.
- 23) Ghauri ASK et al: The Diagnosis and Management of Mixed Arterial/Venous Leg Ulcers in Community-based Clinics. *EJVES*, 1998.
- 24) De Mattei M, Ongaro A, et al Time and dose-dependent effects of chronic wound fluid on human adult dermal fibroblasts. *Dermatol Surg* 2008; 34: 347-56
- 25) Parazzi V. et al. Platelet gel from cord blood: A novel tool for tissue engineering. *Platelet* 2010; 21:549-554.
- 26) Bennett NT et. al. Growth factors and wound healing: part II. Role in normal and chronic wound healing. *Am J Surg*. 1993; 165: 729-737.
- 27) Steed DL. The role of growth factors in wound healing. *Surg Clin North Am*. 1997; 77(3): 575-586
- 28) Greenhalg DG. The role of growth factors in wound healing. *J Trauma*. 1996; 41(1): 159-167.
- 29) Steenfoss HH. Growth factors and wound healing. *Scand J Plast Reconstruct Hand Surg*. 1994; 28: 95.
- 30) Stadelmann WK et. al. Physiology and healing dynamics of chronic cutaneous wounds. *Am J Surg*. 1998; 176 [Suppl 2A]:26S-38S
- 31) Cooper DM et. al. Determination of endogenous cytokines in chronic wounds. *Ann Surg*. 1994; 219: 688-692.
- 32) Robson MC. The role of growth factors in the healing of chronic wound. *Wound repair Regen*. 1997; 5: 12-17
- 33) Ksander GA et. al. TGFs- $\beta$ 1 and - $\beta$ 2 enhance connective tissue formation in animal models of dermal wound healing by secondary intent. *Ann NY Acad Sci*. 1990; 595: 135-247.
- 34) Uhl E et. al. Basic fibroblast growth factor accelerats wound healing in chronically ischaemic tissue. *Br J Surg*. 1993; 80(8): 977-980
- 35) Xia YP et. al. Effects of keratinocyte growth factor-2 on wound healing in a ischeamia-impaired rabbit ear model and on scar formation. *J Pathol*. 1999; 188: 431-438.
- 36) Bhora FY et. al. Effect of growth factors on cell proliferation and epithelialization in human skin. *J Surg Res*. 1995; 59(2): 236-244.
- 37) Brown GL et. al. Enhancement of wound healing by topical treatment wth epidermal growth factor. *N Engl J Med*. 1989; 321: 76-79.
- 38) Cohen IK et. al. Topical application of epidermal growth factors (EGF) onto partial-thickness wounds in human volunteers does not enhance reepithelialisation. *Plast Reconstr Surg*. 1995; 96(2): 251-254.
- 39) Falanga V et. al. Topical use of recombinant epidermal growth factor (rEGF) in venous ulcers. *J Dermtol Surg Oncol*. 1992; 18: 601-606.
- 40) Siegbahn A et. al. Differential effects of the various isoforms of platelet.derived growth factor on chemotaxis of fibroblasts, monocytes, and granulocytes. *J Clin Invest*. 1990; 85: 916-920.
- 41) Steed DL. Clinical evaluation of rhPDGF for the treatment of lower extremity diabetic ulcer. *J Vasc Surg*. 1995; 21: 71-81.

- 42) Wiemann TJ et. al. Efficacy and safety of a topical gel formulation of rhPDGF-BB (becaplermin) in patients with nonhealing diabetic ulcers: a phase III, randomized, placebo-controlled, double-blind study. *Diabetes Care*. 1998; 21: 822-827.
- 43) Wiemann TJ et. al. Clinical efficacy of becaplermin (rhPDGF-BB) GEL. *Am J Surg* . 1998; 176 [Supp 2A]: 74S-79S
- 44) Robson MC et. al. Platelet-derived growth factor-BB for the treatment of chronic pressure ulcers. *Lancet*. 1992; 339: 323.
- 45) Mustoe TA et. al. A phase II study to evaluate recombinant PDGF-BB in the treatment of stage III/IV pressure ulcers. *Arch Surg*. 1994; 129: 213-219.
- 46) Jyung RW. Granulocyte-macrophage colony-stimulating factor and granulocyte colony-stimulating factor: differential action on incisional wound healing. *Surgery*. 1994; 115: 325-334.
- 47) Canturk NZ. Effects of granulocyte-macrophage colony- stimulating factor on incisional wound healing in an experimental diabetic rat model. *Endocr Res*. 1999; 25(1): 105-116.
- 48) Ure I et. al. Granulocyte/macrophage colony stimulating factor increases wound-fluid interleukin 8 in normal subjects but does not accelerate wound healing. *Br J Dermatol*. 1998; 138(2): 277-282.
- 49) Marquez Da Costa R et. al. Double-blind randomized placebo-controlled trail of the use of granulocyte-macrophage colony-stimulating factor in chronic leg ulcer. *Am J Surg*. 1997, 173. 165-168.
- 50) Arnold F. et. al. Granulocyte monocyte-colony stimulating factor as an agent for wound healing. *J Wound Care*. 1995; 4(9): 400-402-
- 51) Borbolla-Escoboza JR et. al. Recombinant human granulocyte-macrophage colony-stimulating factor as treatment for chronic leg ulcers. . *Rev Invest Clin*. 1997; 49: 449-451.
- 52) El Saghir NS et. al. Pressure ulcer accelerated healing with local injections of granulocyte macrophage-colony stimulating factor. *J infect*. 1997; 35(2): 179-182.
- 53) Malik IA et. al. Effect of subcutaneous injection of granulocyte-macrophage colony stimulating factor (GM-CSF) on healing of chronic refractory wounds. *Eur J Surg*. 1998; 164(10): 737-744.
- 54) Wandt UB. GM-CSF in the treatment of skin ulceration in breast cancer. *J Wound Care*. 1997; 6(4): 165-166.
- 55) Raderer M. et. al. Topical granulocyte-macrophage colony stimulating factor in patients with cancer and impaired wound healing. *J Natl Cancer Inst*. 1997; 89(3): 2.
- 56) Desmouliere A. et. al. TGFs- $\beta$ 1 induces alpha-smooth muscle actin expression in granulation tissue myofibroblast and in quiescent and growing cultured fibroblast. *J Cell Biol*. 1993; 122: 103-11.
- 57) O'Kane S. et. al. TGFs- $\beta$ s and wound care healing. In *J Biochem Cell Biol*. 1997; 29(1): 63-78.
- 58) Quirinia A. The effect of recombinant bFGF in fibrine adhesive vehicle on the healing of ischaemic and normal incisional skin wounds. *Scand J Plast Reconstr Surg Hand Surg*. 1998; 32(1): 9-18.
- 59) Robson MC et. al. The safety and effect of topically applied recombinant bFGF on the healing of chronic pressure sores. *Ann Surg*. 1992; 216: 401-406.
- 60) Richard JL et. al. Effect of topical bFGF on the healing of chronic diabetic neuropathic ulcer of the foot. A pilot, randomized, double-blind, placebo-ontrrolled study. *Diabetes*
- 61) Nakamura, T., Nawa, K. and Ichihara, A. Partial purification and characterization of hepatocyte growth factor from serum of hepatectomized rats. *Biochem. Biophys. Res. Commun*. 1984; 122 : 1450–1459.
- 62) Bottaro, D.P., Rubin, J.S., Falletto, D.L., Chan, A.M., Kmiecik, T.E., Vande Woude, G.F. et al. Identif ication of the hepatocyte growth factor receptor as the c-met proto-oncogene product. *Science* 1991 ;251 : 802–804.

- 63) Matsumoto, K. and Nakamura, T. Hepato-cyte growth factor: molecular structure, roles in liver regeneration, and other biological functions. *Crit. Rev. Oncog.* 1992; 3 : 27–54.
- 64) Funakoshi, H. and Nakamura, T. Hepatocyte growth factor: from diagnosis to clinical applications. *Clin. Chim. Acta* 2003; 327 : 1–23.
- 65) Madonna R, Rokosh G, De Caterina R, Bolli R. Hepatocyte growth factor/Met gene transfer in cardiac stem cells-potential for cardiac repair. *Basic Res Cardiol.* 2010 Jul;105(4):443-52.
- 66) Yamamoto, K., Morishita, R., Hayashi, S., Matsushita, H., Nakagami, H., Moriguchi, A. et al. Contribution of Bcl-2, but not Bcl-xL and Bax, to antiapoptotic actions of hepatocyte growth factor in hypoxia-conditioned human endothelial cells. *Hypertension* 2001; 37: 1341–1348.
- 67) Morishita, R., Nakamura, S., Hayashi, S., Taniyama, Y., Moriguchi, A., Nagano, T. et al. Therapeutic angiogenesis induced by human recombinant hepatocyte growth factor in rabbit hind limb ischemia model as cytokine supplement therapy. *Hypertension* 1999 ; 33: 1379–1384.
- 68) Birukova, A.A., Alekseeva, E., Mikaelyan, A. and Birukov, K.G. HGF attenuates thrombin-induced endothelial permeability by Tiam1-mediated activation of the Rac pathway and by The impact of HGF discovery on medical sciences No. 6] 607 Tiam1 / Rac-dependent inhibition of the Rho pathway. *FASEB J.* 2007; 21: 2776–2786.
- 69) Mizuno, S. and Nakamura, T. Prevention of neutrophil extravasation by hepatocyte growth factor leads to attenuations of tubular apoptosis and renal dysfunction in mouse ischemic kidneys. *Am. J. Pathol.* 2005 ;166 : 1895 – 1905.
- 70) Ohnishi, H., Mizuno, S. and Nakamura, T. Inhibition of tubular cell proliferation by neutralizing endogenous HGF leads to renal hypoxia and bone marrow-derived cell engraftment in acute renal failure. *Am. J Physiol. Renal Physiol.* 2008 ; 294 : F326–F335.
- 71) Nakamura T, Mizuno S. The discovery of hepatocyte growth factor (HGF) and its significance for cell biology, life sciences and clinical medicine. *Proc Jpn Acad Ser B Phys Biol Sci.* 2010;86(6):588-610.
- 72) Madonna R, Rokosh G. Insights into gene therapy for critical limb ischemia: the devil is in the details. *Vascul Pharmacol.* 2012 Aug 19;57(1):10-4.
- 73) Powell, R.J., Simons, M., Mendelsohn, F.O., Daniel, G., Henry, T.D., Koga, M., Morishita, R., Annex, B.H. Results of a double-blind, placebo-controlled study to assess the safety of intramuscular injection of hepatocyte growth factor plasmid to improve limb perfusion in patients with critical limb ischemia. *Circulation* 2008; 118: 58–65.
- 74) Shigematsu, H., Yasuda, K., Iwai, T., Sasajima, T., Ishimaru, S., Ohashi, Y., Yamaguchi, T., Ogihara, T., Morishita, R., 2010. Randomized, double-blind, placebo-controlled clinical trial of hepato cyte growth factor plasmid for critical limb ischemia. *Gene Ther.* 17, 1152 – 1161.
- 75) Powell RJ, Goodney P, Mendelsohn FO, Moen EK, Annex BH; HGF-0205 Trial Investigators. Safety and efficacy of patient specific intramuscular injection of HGF plasmid gene therapy on limb perfusion and wound healing in patients with ischemic lower extremity ulceration: results of the HGF-0205 trial. *J Vasc Surg.* 2010 Dec;52(6):1525-30.
- 76) Gu, Y., Zhang, J., Guo, L., Cui, S., Li, X., Ding, D., Kim, J.M., Ho, S.H., Hahn, W., Kim, S. A phase I clinical study of naked DNA expressing two isoforms of hepatocyte growth factor to treat patients with critical limb ischemia. *J. Gene Med.* 2011; 13: 602–610.
- 77) Henry, T.D., Hirsch, A.T., Goldman, J., Wang, Y.L., Lips, D.L., McMillan, W.D., Duval, S., Biggs, T.A., Keo, H.H. Safety of a non-viral plasmid-encoding dual isoforms of hepatocyte growth factor in critical limb ischemia patients: a phase I study. *Gene Ther.* 2011; 18: 788– 794.

- 78) Seki, T., Hagiya, M., Shimonishi, M., Nakamura, T., Shimizu, S. Organization of the human hepatocyte growth factor-encoding gene. *Gene*. 1991; 102: 213–219.
- 79) Nayeri F, Strömberg T, Larsson M, Brudin L, Söderström C, Forsberg P. Hepatocyte growth factor may accelerate healing in chronic leg ulcers: a pilot study. *J Dermatolog Treat*. 2002 Jun;13(2):81-6.
- 80) Robson MC et al. The future of recombinant growth factors in wound healing. *Am J Surg* 1998; 176: 800s-22s
- 81) Schweigere L Basic fibroblast growth factor as a wound healing hormone. *TIPS* 1988; 9: 427-428
- 82) Mustoe TA et al. Accelerated healing of incisional wounds in rats induced by transforming growth factor beta. *Science* 1997; 237: 1333-1336
- 83) Le Grand EK et al. Preclinical promise of becaplermin in wound healing. *Am J Surg* 1998; 176: 48s-54s
- 84) Robson MC et al. Exogenous growth factor application effect of human wound healing. *P Dermatol* 1996; 30: 1-7
- 85) Knighton DR et al. Classification and treatment of chronic nonhealing wounds. *Ann Surg* 1996; 204: 322-330
- 86) *Diabet care* 2000
- 87) Rabe E et al. Social cost of chronic venous disease in CEAP C4, C5, C6 disease. *Phlebology* 2010; 25: 64-67
- 88) Tennavall GR et al. Treatment of venous leg ulcers can be better and cheaper. Annual costs calculation based on an inquiry study. *Läkartidningen* 2004; 101: 1506-10
- 89) Purwins S. et al. Cost of illness of chronic leg ulcers in Germany. *Int Wound J* 2010; 7: 97-102.
- 90) McGuckin et al. Validation of venous leg ulcers guidelines in the USA and UK. *Am J Surg* 2002; 183: 132-7.